

تأثیر تمرین هوازی و مصرف مکمل سه گیاه بر موش‌های نر در حال ترک مورفین: بررسی تغییرات در بیان ژن‌های فاکتورهای التهابی و POMC

محبوبه زبینه پور^۱، فرزانه تقیان^۲، خسرو جلالی دهکردی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: این مطالعه با هدف بررسی تأثیر تمرین هوازی و مصرف سه گیاه (زرشک، بابونه، گل نسترن) بر تغییرات فاکتورهای التهابی $TNF-\alpha$ ، $IL-1\beta$ و بیان ژن POMC در مغز موش‌های C57BL/6 در حال ترک از مورفین انجام شد.

روش‌ها: برای این منظور، ۵۴ سر موش C57BL/6 نر به‌طور تصادفی به نه گروه تقسیم‌بندی شدند. برای ایجاد وابستگی، مورفین به آب یا ساکارز در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ اضافه شد و علائم اعتیاد بررسی شد. مداخلات تمرین هوازی و مصرف سه گیاه به مدت ۴ هفته انجام شد. برای ارزیابی رفتاری از آزمون میدان باز و برای بررسی عوامل التهابی و بیان ژن، از روش Real-time PCR استفاده شد.

یافته‌ها: اعتیاد به مورفین باعث افزایش بیان عوامل التهابی، کاهش بیان ژن POMC و زمان فعالیت حرکتی در موش‌ها شد ($P < 0/0001$). در گروه معتاد در حال ترک، متادون، مکمل سه گیاه و تمرین هوازی میزان عوامل التهابی نسبت به گروه شاهد سالم افزایش معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). همچنین کاهش معنی‌داری در میزان POMC و زمان فعالیت حرکتی این گروه مشاهده نشد ($P > 0/05$). مصرف متادون، مکمل سه گیاه و تمرین هوازی و ترکیب هر سه بیان عوامل التهابی $IL-1\beta$ ، $TNF-\alpha$ را کاهش داد و سطح بیان ژن POMC را در مغز موش‌ها افزایش داد ($P < 0/0001$). مکمل سه گیاه، تمرین هوازی و ترکیب مصرف متادون، مکمل سه گیاه، تمرین هوازی میزان زمان فعالیت حرکتی را افزایش داد ($P < 0/0001$).

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی و مصرف سه گیاه، می‌تواند در کاهش علائم اعتیاد، کاهش فاکتورهای التهابی و بهبود عملکرد سیستم عصبی مرکزی مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: اعتیاد؛ تمرین هوازی؛ زرشک؛ گیاه بابونه؛ گل نسترن

ارجاع: زبینه پور محبوبه، تقیان فرزانه، جلالی دهکردی خسرو. تأثیر تمرین هوازی و مصرف مکمل سه گیاه بر موش‌های نر در حال ترک مورفین:

بررسی تغییرات در بیان ژن‌های فاکتورهای التهابی و POMC. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۳؛ ۴۲ (۷۶۷): ??

نیز در شکل‌گیری این اختلال نقش دارند و بر فرایند شکل‌پذیری سیناپسی و ساختار عصبی مغز تأثیر می‌گذارد (۳، ۴).
مطالعات نشان می‌دهند که اعتیاد به مواد با افزایش فرایندهای التهابی در مغز همراه است که می‌توانند آسیب‌زا باشند (۵).
سیتوکین‌های التهابی، از جمله فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا ($TNF-\alpha$)، نقش مهمی در ایجاد علائم بیماری و افسردگی دارند و نقش حفاظتی در سیستم عصبی دارند (۶). یکی از ژن‌هایی که نقش

مقدمه

اعتیاد به مواد افیونی، از جمله مورفین، یک چالش بزرگ در زمینه‌ی سلامت عمومی است و به جامعه، هزینه‌های اقتصادی زیادی تحمیل می‌کند (۱).

این اختلال مغزی پیچیده، با مصرف مداوم یا اجباری مواد مشخص همراه است و تغییراتی در عملکرد نورون‌های حساس به مواد افیونی ایجاد می‌کند (۲). علاوه بر عوامل محیطی، عوامل ژنتیکی

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: فرزانه تقیان؛ دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

Email: ft.taghian@gmail.com

بابونه، از جمله اسسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها، خواص درمانی متعددی را ارائه می‌دهند (۱۹). گل نسترن نیز با ترکیبات زیست‌فعال مانند ویتامین C و بیوفلاونوئیدها، خواص ضد اکسیدانی قوی دارد (۲۰). استفاده از این گیاهان در پزشکی به عنوان یک رویکرد ترکیبی می‌تواند در بهبود پیشگیری و درمان بیماری‌ها مؤثر باشد (۲۱).

در پژوهش‌های اخیر که توسط Ranjbar و همکاران انجام شده است، تأثیر روش‌های مختلف تمرین هوازی بر تحلیل عصبی شکمچ دنداندار و شکل‌پذیری سیناپسی در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین مورد بررسی قرار گرفت. هدف اصلی این مطالعه، بررسی تأثیر حالت‌های مختلف تمرین هوازی بر آپوپتوز (مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده)، بلوغ نورونی و شکل‌پذیری سیناپسی و شکمچ دنداندار (DG) در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین بود (۲۲).

Mazzeo و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی جنبه‌های مولکولی و اپی‌ژنتیکی گیرنده‌های اوبیوئید در اعتیاد به مواد مخدر و مدیریت درد در تمرین هوازی پرداختند. مشخص شد که گیرنده‌های اوبیوئید، نقش مهمی در اعتیاد به مواد مخدر و تسکین درد در تمرین هوازی دارند (۴). این مطالعه به تأثیر تمرین هوازی و مکمل سه‌گیا بر اعتیاد در سیستم عصبی و التهابی بدن موش‌های صحرایی می‌پردازد. بررسی تغییرات در سطوح بیان ژن‌های TNF- α ، IL-1B و Pomc در مغز، ما را به درک بهتر مکانیسم‌های اساسی درگیر در اعتیاد نزدیک می‌کند.

روش‌ها

حیوانات

مطالعه‌ی حاضر از نوع تحقیقات بنیادی بوده که به روش تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه شاهد انجام شد. نمونه‌ی آماری این پژوهش موش‌های نر از نژاد C57BL/6 بودند که از مرکز رویان اصفهان خریداری شدند؛ تعداد ۵۴ سر موش نر نژاد C57BL/6 سن ۶ هفته و وزن ۳۰-۲۵ گرم برای این مطالعه استفاده شد. تمام مراحل آزمایشی طبق دستورالعمل‌های بین‌المللی برای مراقبت و استفاده از حیوانات در آزمایشگاه انجام شد. این مطالعه توسط کمیته‌ی تحقیقات حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان با کد اخلاق (IR.IAU.KHUISF.REC.1401.109) تأیید و ثبت شد. تلاش برای به حداقل رساندن ناراحتی برای حیوانات و کاهش تعداد موش‌های آزمایشی به طور کامل انجام شد و حیوانات در طول مطالعه در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس در دمای ثابت اتاق (۲۰ تا ۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد؛ رطوبت ۳۵ تا ۵۵ درصد) با چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعت و دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند.

مهمی در سیستم پاداش مغز ایفا می‌کند، پرواپیوملانوکورتین POMC است که می‌تواند سبب افزایش جستجوی مواد اعتیادآور شود (۷، ۸). پروتئین اینترلوکین ۱ بتا (IL1B)، در فرایندهای التهابی دخیل است و در ایجاد و حفظ رفتارهای سوء مصرف مواد نقش دارد. در مطالعه‌ای در مورد آمیگدال قاعده‌ای جانبی و هیپوکامپ نشان داده شد که مصرف مورفین همزمان با افزایش بیان و فعالیت IL1B، باعث ایجاد ترجیح مکان شرطی به مورفین و کاهش بی‌زاری نسبت به طعم شرطی شد (۹). تغییرات مداوم در مغز، تداخل بین مواد مخدر و شکل‌پذیری سیناپسی در مناطق مختلف مغز، پدیده‌ی عود را ایجاد می‌کند، علائم اصلی سندرم ترک شامل علائم جسمانی مانند تهوع، عرق‌سرد، انقباض مردمک، افزایش ضربان قلب و غیره می‌باشد. کاهش علائم فیزیکی و روانی، اضطراب و افسردگی، تأثیر مهمی در جلوگیری از عود و ترک اعتیاد به مورفین دارد (۱۰).

مصرف مورفین به سرعت در کشورهای در حال توسعه در حال افزایش است که سبب شده است تا نیاز به درمان مناسب به شدت احساس شود (۱۱). تداخل مواد مخدر در مغز، عود معتادان و سندرم ترک اعتیاد، مشکلات اساسی درمانی را ایجاد می‌کنند. داروهای شیمیایی برای ترک مواد افیونی مشکلات جانبی دارند و درمان‌های جایگزین مطرح شده‌اند. در میان این مداخلات، تمرین هوازی و ترکیبات طبیعی گیاهی پتانسیل امیدوارکننده‌ای را نشان داده‌اند (۱۲). تمرین هوازی بهبود خلق و عملکرد شناختی، کاهش استرس و اضطراب، و افزایش اندورفین را فراهم می‌کند (۱۳). این تمرین انعطاف‌پذیری عصبی را ارتقا داده و به کاهش رفتارهای اعتیادی کمک می‌کند. همچنین، تمرین هوازی در سطح سلولی و مولکولی تغییراتی در نسخه‌برداری ژن‌های مؤثر در حافظه، یادگیری و شناخت ایجاد می‌کند (۱۴). مطالعات نشان داده‌اند که تمرین هوازی می‌تواند با سرکوب تولید TNF- α و IL-1B در مغز، التهاب عصبی را کاهش دهد (۱۵، ۱۶).

در مطالعه‌ای دیگر Jiayu و Weiye، به بررسی تأثیر تمرین با شدت بالا و مقاومتی با تردمیل بر بیان ژن POMC در نواحی مختلف مغز موش‌های صحرایی پرداختند که مشخص شد تغییرات در بیان ژن POMC در پاسخ به تمرین با شدت بالا متوسط بسته به نواحی مغز متفاوت است (۱۷).

گیاهان دارویی، از جمله زرشک، بابونه و نسترن، می‌توانند تأثیر مثبتی در درمان اعتیاد به مواد مخدر و الکل داشته باشند. آلکالوئید موجود در زرشک می‌تواند اثرات ضد التهابی و کاهش فشارخون و چربی خون داشته باشد (۱۸). بابونه، نیز به عنوان یک گیاه دارویی مهم از خانواده کاسنیان شناخته شده است که در درمان بیماری‌ها و مشکلات مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیبات فنلی موجود در

گروه‌بندی

Real-time PCR

به منظور تعیین اثر متغیر مستقل بر تغییرات احتمالی متغیرهای وابسته طبق برنامه از پیش تعیین شده، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، حیوانات با استفاده از ترکیب زایلازین و کتامین بی‌هوش شدند و در محیط کاملاً استریل و با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت جمجمه بافت مغز خارج، قسمت بافت هیپوکمپ مغز برداشته و برای بررسی به آزمایشگاه منتقل شد. ابتدا بر اساس پروتکل شرکت سازنده (CinnaGen، ایران) از بافت هیپوکمپ استخراج شد. سپس غلظت و خلوص نمونه mRNA توسط دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ در جذب ۲۸۰/۲۶۰ ارزیابی شد (Thermo Scientific, USA). علاوه بر این، سنتز cdNA طبق پروتکل سازنده انجام شد و سپس cdNA سنتز شده برای انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد. بیان نسبی ژن‌های TNF- α و IL-1 β و POMC پس از طراحی پرایمرهای اختصاصی در نرم‌افزارهای (Vondelpark Colorado Beacon designer, Springs CO 80907, USA) oligo 7 (PREMIER Biosoft International, San Francisco, CA) 7، با روش کمی q-RT PCR ارزیابی شد (CYBR Green TaKaRa, Japan) آنالیز بیان ژن بر اساس روش 2-CT $\Delta\Delta$ انجام شد. ژن مرجع در این مطالعه ژن بتا-2-میکروگلوبولین (B2M) در نظر گرفته شد. علاوه بر این، آغازگرها از ماکروژن (کره جنوبی) خریداری شده‌اند. توالی ژن‌ها در جدول ۲ آمده است.

برای تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۶ (version 26, IBM Corporation, Armonk, NY) استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk انجام شد. برای تمامی متغیرها میانگین و خطاهای استاندارد با محاسبه آمار توصیفی تعیین شد. برای ارزیابی معنی‌داری آماری در همه گروه‌ها، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. سطح معنی‌داری $P < 0/05$ تعیین شد.

یافته‌ها

آزمون رفتاری میدان باز

یافته‌های آزمون رفتاری میدان باز نشان داد که اعتیاد به مورفین باعث کاهش زمان فعالیت حرکتی در موش‌های گروه معتاد به مورفین شد (جدول ۳) (شکل ۱). بیشترین زمان حرکت در میدان باز در گروه کنترل سالم و گروه در حال ترک با متادون، مکمل گیاهی و تمرین هوازی مشاهده شد ($P < 0/0001$). عوامل التهابی

نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که اعتیاد به مورفین باعث افزایش بیان TNF- α و IL-1 β شده، همچنین مصرف متادون باعث افزایش فاکتورهای التهابی می‌شود؛ در گروه‌های معتاد در حال ترک

حیوانات پس از یک هفته به صورت تصادفی در ۹ گروه ۶ تا ۶ شامل گروه شاهد، گروه معتاد به مورفین، گروه معتاد در حال ترک با متادون، گروه معتاد در حال ترک با داروهای گیاهی، گروه معتاد در حال ترک با تمرین هوازی، گروه معتاد در حال ترک با متادون و داروی گیاهی، گروه معتاد در حال ترک با متادون و تمرین هوازی، گروه معتاد در حال ترک با داروی گیاهی، متادون و تمرین هوازی تقسیم شدند.

طراحی مطالعه

بعد از آشناسازی موش‌ها با محیط مطالعه، جهت ایجاد وابستگی و اعتیاد به مورفین؛ به صورت خوراکی در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ درصد مورفین به همراه ساکارز به آب اضافه شد (۲۳). سپس برای اطمینان از وابستگی، داروی نالوکسان با دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی تزریق شد و سپس علائم ترک اعتیاد در رفتار موش‌ها به مدت ۳۰ دقیقه بررسی شد (۲۴). ساقه، برگ و گل گیاهان بابونه، گل نسترن و زرشک بعد از خریداری از مرکز بدر تحقیقات جهاد کشاورزی اصفهان، در سایه خشک و به صورت پودر در آورده شدند. مقدار مورد نیاز از هر گیاه در الکل اتیلیدک در دو نوبت خیس‌مانده و صاف شد. سپس عصاره‌ی الکلی به دست آمده توسط فاز آبی دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ و با کلروفرم دکانته شد و محصول تحت شرایط مناسب خشک گردید (۲۵) و به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن، ۳۵۰ میلی‌گرم (معادل ۱/۷۵ میلی‌متر) از ترکیب حاصل به گروه‌ها از طریق گاوژ به صورت روزانه تا پایان مطالعه خوراندند.

برنامه تمرین هوازی

یک هفته قبل از شروع مطالعه به منظور کاهش استرس و جهت آشنایی با ترمیم الکترونیکی جوندگان (ساخت پیشرو اندیشه صنعت ایران) موش‌ها ۳ روز متوالی ۱۵ دقیقه در روز با سرعت ۲ متر بر دقیقه تمرین هوازی با شدت کم را تجربه کردند، سپس در برنامه‌ی تمرینات تمرین هوازی به مدت ۸ هفته تا پایان مطالعه شرکت کردند (جدول ۱).

آزمون میدان باز Open Field Test

از آزمون میدان باز، برای ارزیابی فعالیت حرکتی حیوانات استفاده شد. آزمون دارای یک جعبه مکعبی شکل از جنس پلاستیک با اندازه‌ی حدود ۴۰ سانتی‌متر ارتفاع، ۴۰ سانتی‌متر طول و ۴۰ سانتی‌متر عرض بود که کف محفظه توسط خطوطی به بخش‌های مساوی (۱۶ مربع) تقسیم می‌شد. در ابتدا موش به آرامی در وسط دستگاه قرار داده شد و در مجموع سه روز تحت جلسات نظارت (یک ساعت) به صورت روزانه قرار گرفت. متغیرهای ثبت شده و امتیازدهی شده شامل زمان مسافت حرکت بر حسب مدت زمان (ثانیه) بود است.

که رژیم درمانی گیاهی و یا تمرین هوازی را دریافت کرده‌اند، سطح فاکتورهای التهابی مانند TNF- α و IL-1 β در بافت هیپوکمپ مغز کاهش یافته است ($P < 0/0001$) (شکل ۲، ۳).

بیان ژن

نتایج تجزیه و تحلیل آماری بیان ژن POMC نشان داد که اعتیاد

به مورفین به طور معنی‌داری بیان ژن POMC را در بافت هیپوکمپ مغز کاهش داد ($P < 0/0001$) (شکل ۴). با این حال، مصرف متادون، مکمل گیاهی و تمرین هوازی بیان این ژن‌ها را در حیوانات معتاد افزایش داد و این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود. همچنین، یک روند صعودی در بیان این ژن در گروه‌های تمرین هوازی به همراه متادون و مکمل گیاهی با متادون و گروه ترکیبی نسبت به گروه معتاد به مورفین وجود داشت، که از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0/0001$) (شکل ۴).

جدول ۱. برنامه‌ی تمرین هوازی

هفته	پروتکل تمرینی با سرعت کم (متر/دقیقه)	پروتکل تمرینی با سرعت متوسط (متر/دقیقه)			تعداد جلسات در هفته
		میزان فعالیت در روز (دقیقه)			
		اول	دوم	آخر	
آشنا سازی	۲	-	-	۱۵	۳
۱	۲	۵	۸	-	۵
۲	۲	۵	۸	-	۵
۳	۲	۵	۸	-	۵
۴	۲	۵	۸	-	۵
۵	-	-	۸	۱۱	۱۴
۶	-	-	۸	۱۱	۱۴
۷	-	-	۸	۱۱	۱۴
۸	-	-	۸	۱۱	۱۴

جدول ۲. توالی پرایمر

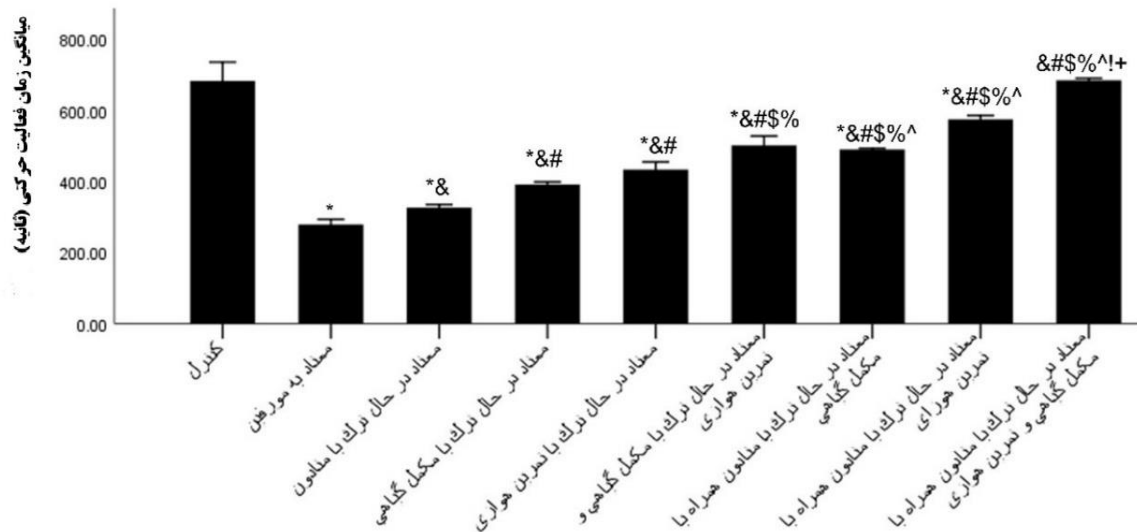
Gene	NCBI ID	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Temperature (°C)	Product length
IL-1 β	NM_008361	TGGACCTTCCAGGATGAG GACA	GTTTCATCTCGGAGCCTGTA GTG	۵۸	۲۰۳
TNF- α	NM_013693	GGTGCCTATGTCTCAGCC TCTT	GCCATAGAACTGATGAGA GGGAG	۵۲	۱۰۶
POMC	NM_008895	CCATAGATGTGTGGAGCT GGTG	CATCTCCGTTGCCAGGAAA CAC	۶۲	۱۳۸
B2M	NM_009735	ACAGTTCACCCGCCTCA CATT	TAGAAAGACCAGTCCTTG CTGAAG	۶۰	۱۳۸

جدول ۳: مقایسه میانگین و انحراف معیار گروه‌های مطالعه

متغیر	گروه مورد مطالعه	میانگین \pm انحراف معیار	P
IL1B	A	۰/۹۷ \pm ۰/۰۳	< ۰/۰۰۰۱
	B	۶/۳۵ \pm ۰/۳۸	
	C	۸/۹۲ \pm ۰/۳۷	
	D	۴/۱۷ \pm ۰/۲۱	
	E	۳/۶۷ \pm ۰/۱۶	
	F	۲/۲۰ \pm ۰/۲۸	
	G	۵/۳۳ \pm ۰/۳۲	
	H	۴/۷۰ \pm ۰/۲۱	
	I	۱/۱۳ \pm ۰/۱۸	
TNF-a	A	۰/۹۵ \pm ۰/۰۵	< ۰/۰۰۰۱
	B	۸/۱۸ \pm ۰/۲۲	
	C	۱۲/۰۸ \pm ۰/۳۱	
	D	۶/۱۷ \pm ۰/۲۱	
	E	۵/۶۷ \pm ۰/۱۶	
	F	۳/۲۰ \pm ۰/۲۸	
	G	۴/۳۳ \pm ۰/۳۲	
	H	۳/۸۸ \pm ۰/۳۱	
	I	۱/۱۳ \pm ۰/۱۸	
POMC	A	۰/۹۹ \pm ۰/۰۶	< ۰/۰۰۰۱
	B	۰/۱۱ \pm ۰/۰۲	
	C	۰/۴۹ \pm ۰/۰۱	
	D	۰/۳۰ \pm ۰/۰۱	
	E	۰/۳۲ \pm ۰/۰۱	
	F	۰/۴۱ \pm ۰/۰۲	
	G	۰/۵۶ \pm ۰/۰۲	
	H	۰/۶۰ \pm ۰/۰۱	
	I	۰/۸۲ \pm ۰/۰۳	
زمان فعالیت حرکتی	A	۶۸۳/۳۳ \pm ۵۰/۰۷	< ۰/۰۰۰۱
	B	۲۷۸/۸۳ \pm ۱۳/۷۰	
	C	۳۲۶/۱۷ \pm ۸/۰۸	
	D	۳۹۱/۱۷ \pm ۷/۱۴	
	E	۴۳۳/۳۳ \pm ۲۰/۶۶	
	F	۵۰۱/۶۷ \pm ۲۴/۸۳	
	G	۴۸۹/۸۳ \pm ۳/۱۹	
	H	۵۷۴/۸۳ \pm ۱۰/۴۰	
	I	۶۸۴/۸۳ \pm ۵/۳۱	

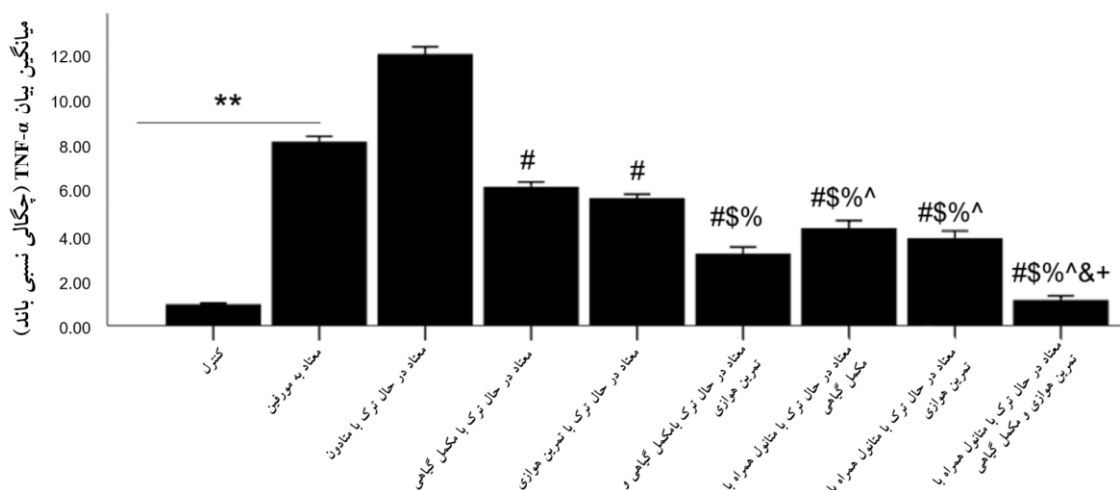
سطح معنی‌داری با استفاده از آزمون One-way ANOVA بدست آمده است.

A = کمتر؛ B = معنادار به مورفین؛ C = معنادار در حال ترک با متادون؛ D = معنادار در حال ترک با مکمل گیاهی؛ E = معنادار در حال ترک با تمرین هوازی؛ F = معنادار در حال ترک با مکمل گیاهی و تمرین هوازی؛ G = معنادار در حال ترک با متادون همراه با مکمل گیاهی؛ H = معنادار در حال ترک با متادون همراه با تمرین هوازی؛ I = معنادار در حال ترک با متادون همراه با مکمل گیاهی و تمرین هوازی.

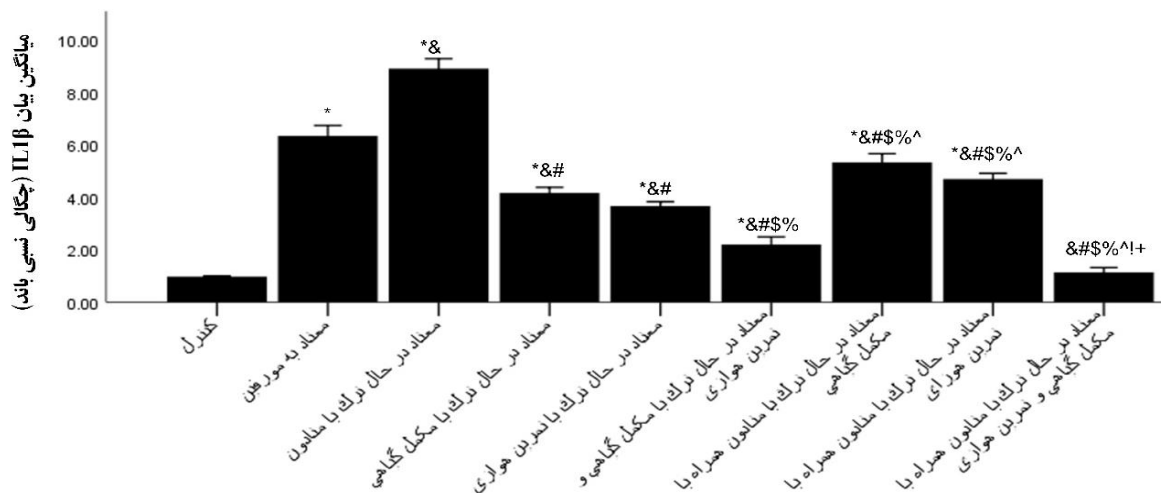


شکل ۱. میزان زمان فعالیت حرکتی در آزمون میدان باز در گروه‌های مطالعه. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. * نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه شاهد می‌باشد ($P < 0/0001$). & نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار به مورفین می‌باشد ($P < 0/0001$). # نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون می‌باشد ($P < 0/0001$). \$ نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0/0001$). ^ نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با مکمل گیاهی و تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0/0001$). ! نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون همراه با مکمل گیاهی می‌باشد ($P < 0/0001$). + نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون همراه با تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0/0001$).

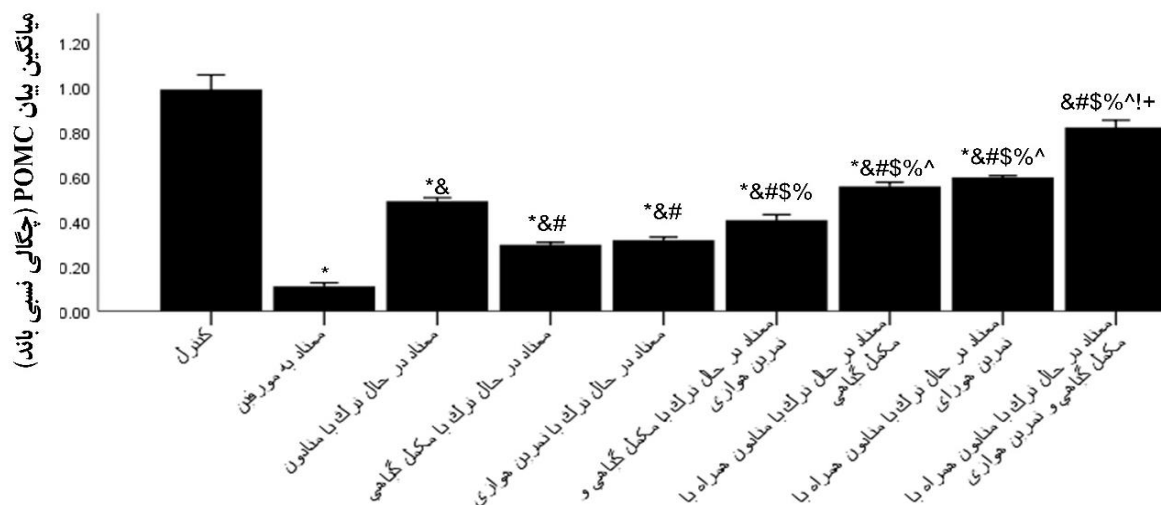
*



شکل ۲. سطح بیان نسبی فاکتور التهابی TNF- α در گروه‌های مطالعه. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. * نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه شاهد می‌باشد ($P < 0/0001$). & نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار به مورفین می‌باشد ($P < 0/0001$). # نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون می‌باشد ($P < 0/0001$). \$ نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0/0001$). ^ نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با مکمل گیاهی و تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0/0001$). ! نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون همراه با مکمل گیاهی می‌باشد ($P < 0/0001$). + نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون همراه با تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0/0001$).



شکل ۳. سطح بیان نسبی فاکتور التهابی IL-1 β در گروه‌های مطالعه. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. $B2M$ به عنوان ژن خانه‌گردان استفاده شد. آنالیز بیان ژن‌ها با استفاده از روش $\Delta\Delta CT - 2$ محاسبه و ارزیابی گردید. * نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه شاهد می‌باشد ($P < 0.0001$). & نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار به مورفین می‌باشد ($P < 0.0001$). # نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون می‌باشد ($P < 0.0001$). \$ نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با مکمل گیاهی ($P < 0.0001$). % نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0.0001$). ^ نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون همراه با مکمل گیاهی می‌باشد ($P < 0.0001$). + نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون همراه با تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0.0001$).



شکل ۴. سطح بیان نسبی ژن POMC در گروه‌های مطالعه. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. $B2M$ به عنوان ژن خانه‌گردان استفاده شد. آنالیز بیان ژن‌ها با استفاده از روش $\Delta\Delta CT - 2$ محاسبه و ارزیابی گردید. * نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه شاهد می‌باشد ($P < 0.0001$). & نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار به مورفین می‌باشد ($P < 0.0001$). # نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون می‌باشد ($P < 0.0001$). \$ نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با مکمل گیاهی ($P < 0.0001$). % نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0.0001$). ^ نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون همراه با مکمل گیاهی می‌باشد ($P < 0.0001$). + نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه معنادار در حال ترک با متادون همراه با تمرین هوازی می‌باشد ($P < 0.0001$).

بحث

با توجه به نتایج آزمون میدان باز (شکل ۱)، مشخص شد که اعتیاد باعث کاهش عملکرد حرکتی در موش‌ها می‌شود؛ در عین حال، مصرف مکمل گیاهی و انجام تمرین هوازی به صورت جداگانه و یا ترکیبی، منجر به افزایش فعالیت حرکتی موش‌ها شد و در گروه مکمل گیاهی و تمرین هوازی، فعالیت حرکتی موش‌ها نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود. نتایج این بخش از مطالعه با نتایج مورگان و همکاران (۲۶) همسو بود.

در ارتباط با فاکتور التهابی IL-1 β ، نتایج نشان داد که اعتیاد به مورفین فاکتور التهابی IL-1 β را افزایش می‌دهد و اختلاف معنی‌دار در پاسخ التهابی بین گروه‌های مختلف با گروه شاهد وجود دارد؛ این تفاوت‌ها می‌تواند نشان‌دهنده تأثیرات مختلف مداخلات درمانی و شرایط محیطی بر روی متغیر مورد مطالعه هستند. از طرفی، مطالعات نشان داده‌اند که IL-1 β در تأثیرات متناقض پاداش و بی‌زاری ناشی از مواد مخدر نقش دارد. بیان زیاد IL-1 β با فعالیت عصبی التهابی و پاسخ‌های التهابی مرتبط است. ژنتیک IL-1 β نیز با خطر وابستگی مثبت به مواد افیونی و الکل همبستگی دارد. بنابراین، سوء مصرف مواد، ممکن است در تحریک التهاب عصبی نقش داشته باشد.

همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که اختلالات پیش‌التهابی و تغییرات التهابی می‌توانند خطر اختلالات شناختی و افسردگی را افزایش دهند. به طور کلی می‌توان بیان کرد که در گروه‌های تحت درمان با تمرینات هوازی و مصرف مکمل‌های گیاهی، کاهش معنی‌داری در فاکتورهای التهابی در مقایسه با گروه شاهد معتاد به مورفین داشت. این نتایج نشان داد که تمرینات هوازی و مصرف مکمل‌های گیاهی می‌توانند به طور معنی‌دار نقشی در کاهش پاسخ التهابی نورونی داشته باشند. در نهایت، اعتیاد به مورفین باعث کاهش بیان ژن POMC می‌شود (شکل ۴)، اما در گروه معتاد در حال ترک با متادون، بیان ژن POMC کاهش می‌یابد. در حالی که در گروه معتاد در حال ترک با مصرف مکمل گیاهی و تمرین هوازی، افزایش می‌یابد.

سیستم سیتوکین‌ها نقش مهمی در ایجاد افسردگی دارد، و بیان ژن POMC که در سیستم پاداش مغز نقش دارد، در گروه‌های درمانی مختلف تغییر می‌کند. ترکیب گیاهان دارویی و تمرین هوازی ممکن است تأثیر مثبتی بر سیستم پاداش داشته باشد. نتایج این قسمت از مطالعه با پژوهش Fang و همکاران (۲۷)، Alvaro و همکاران (۲۸) همسو می‌باشد.

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تمرینات هوازی و مکمل‌های گیاهی می‌توانند به کاهش التهاب نورونی کمک کنند. به عنوان مثال Zhao در مقاله‌ی خود نشان داد که چگونه تمرینات ورزشی می‌توانند به کاهش التهاب نورونی و بهبود عملکرد مغزی کمک کند (۲۹).

همچنین، Liu و همکاران، نشان دادند که تمرینات هوازی پیش از جراحی می‌توانند به کاهش التهاب نورونی و بهبود سلامت میتوکندری در موش‌های مسن کمک کنند. این مطالعات تأیید می‌کنند که تمرینات هوازی و مکمل‌های گیاهی، می‌توانند به عنوان یک استراتژی درمانی مؤثر برای کاهش پاسخ‌های التهابی نورونی و بهبود عملکرد مغزی مورد استفاده قرار گیرند. تحلیل داده‌های مرتبط با سطوح TNF- α در مغز موش‌های در حال ترک مورفین نشان داد که گروه‌هایی که تمرینات هوازی و مکمل‌های گیاهی مصرف کرده‌اند، نسبت به سایر گروه‌ها دارای کاهش معنی‌دار در سطوح TNF- α هستند. نتایج به وضوح نشان دادند که تمرینات هوازی و مصرف مکمل‌های گیاهی می‌توانند به طور معنی‌دار در کاهش پاسخ‌های التهابی نورونی در مغز مؤثر باشند.

به طور خلاصه، این مطالعه نشان داد که تمرین هوازی و مصرف سه گیاه دارویی (زرشک، بابونه، گل نسترن) می‌توانند به کاهش علائم اعتیاد به مورفین و تغییرات فاکتورهای التهابی و بیان ژن POMC در مغز کمک کنند. با این حال، نیاز به تحقیقات بیشتر در انسان‌ها و بررسی دقیق‌تر مکانیسم‌های اثر این گیاهان دارویی و تمرین هوازی وجود دارد. استفاده از ترکیب تمرین هوازی و مصرف گیاهان دارویی خاص می‌تواند در کاهش علائم اعتیاد به مورفین مؤثر باشد و احتمالاً کارایی برنامه‌های درمان اعتیاد را در انسان‌ها افزایش دهد. اثرات ضد التهابی گیاهان دارویی مورد استفاده در این مطالعه، با کاهش بیان عوامل التهابی در مغز موش‌های مورد مطالعه، تأیید شده است، که نشان داد استفاده از این گیاهان در برنامه‌های درمان اعتیاد می‌تواند به کنترل پاسخ التهابی عصبی مرتبط با اعتیاد به مورفین کمک کند. نتایج این مطالعه با مطالعات McIntyre (۶)، Dantzer و همکاران (۳۱)، Wang و همکاران (۳۲) همسو بود.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه، استفاده از گیاهان زرشک، بابونه و گل نسترن به همراه تمرین هوازی می‌تواند تأثیرات مثبتی بر بیان ژن‌های مرتبط با سیستم‌های مورفینی و فاکتورهای التهابی در بافت هیپوکمپ مغز داشته باشد و ممکن است در بهبود عملکرد شناختی و کاهش التهابات هیپوکمپ مؤثر باشد.

این مطالعه بر اهمیت ترکیب این دو روش در یک رویکرد جامع تأکید می‌کند. با این حال، برای تأیید کارایی و ایمنی این رویکرد جامع در درمان اعتیاد به مورفین، نیاز به تحقیقات بیشتر در جمعیت انسانی با روش‌های علمی قوی‌تر است. لذا، استدلال نهایی برای استفاده از تمرین هوازی و مکمل‌های گیاهی به‌عنوان روش‌های درمان کمکی برای اعتیاد به مورفین در انسان‌ها نیازمند تحقیقات بیشتر و آزمایشات بالینی دقیق‌تر است. پیشنهاد می‌شود تحقیقات آینده بر روی سایر گیاهان دارویی و

هوازی با شماره‌ی ۱۶۲۴۷۳۳۹۴ دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان (واحد خوراسگان) می‌باشد، که با هزینه‌ی شخصی نویسنده اول انجام شد. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از دانشکده‌ی علوم ورزشی که در انجام این تحقیق یاری نمودند صمیمانه ابراز می‌داریم.

روش‌های تمرین هوازی صورت بگیرد. همچنین، بررسی تأثیر این روش‌ها در انسان‌ها نیز می‌تواند اهمیت داشته باشد و باید در تحقیقات آینده مدنظر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکترای رشته‌ی فیزیولوژی تمرین

References

1. Maclean JC, Mallatt J, Ruhm CJ, Simon K. The opioid crisis, health, healthcare, and crime: A review of quasi-experimental economic studies. *The ANNALS of the American Academy of Political and Social Science* 2022; 703(1): 15-49.
2. George BE, Barth SH, Kuiper LB, Holleran KM, Lacy RT, Raab-Graham KF, et al. Enhanced heroin self-administration and distinct dopamine adaptations in female rats. *Neuropsychopharmacology* 2021; 46(10): 1724-33
3. Abu Y, Roy S. Prenatal opioid exposure and vulnerability to future substance use disorders in offspring. *Exp Neurol* 2021; 339: 113621.
4. Mazzeo F, Meccariello R, Guatteo E. Molecular and epigenetic aspects of opioid receptors in drug addiction and pain management in sport. *Int J Mol Sci* 2023; 24(9): 7831.
5. Berríos-Cárcamo P, Quezada M, Quintanilla ME, Morales P, Ezquer M, Herrera-Marschitz M, et al. Oxidative stress and neuroinflammation as a pivot in drug abuse. A focus on the therapeutic potential of antioxidant and anti-inflammatory agents and biomolecules. *Antioxidants* 2020; 9(9): 830.
6. McIntyre RS. Sleep and inflammation: implications for domain approach and treatment opportunities. *Biological Psychiatry* 2016; 80(1): 9-11.
7. Pilozzi A, Carro C, Huang X. Roles of β -endorphin in stress, behavior, neuroinflammation, and brain energy metabolism. *Int J Mol Sci* 2020; 22(1): 338.
8. Jain A, Mishra A, Shakkarpude J, Lakhani P. Beta endorphins: the natural opioids. *Int J Chem Stud* 2019; 7(3): 323-32.
9. Kim J, Ham S, Hong H, Moon C, Im H-I. Brain reward circuits in morphine addiction. *Mol Cells* 2016; 39(9): 645-53.
10. Pergolizzi Jr JV, Raffa RB, Rosenblatt MH. Opioid withdrawal symptoms, a consequence of chronic opioid use and opioid use disorder: Current understanding and approaches to management. *J Clin Pharm Ther* 2020; 45(5): 892-903.
11. Strang J, Volkow ND, Degenhardt L, Hickman M, Johnson K, Koob GF, et al. Opioid use disorder. *Nat Rev Dis Primers* 2020; 6(1): 3.
12. Jaffal S, Abazid H. Medicinal plants and addiction treatment: an overview. *Handbook of Substance Misuse and Addictions: From Biology to Public Health* 2022: 1-26.
13. Öhman H, Savikko N, Strandberg TE, Pitkälä KH. Effect of physical exercise on cognitive performance in older adults with mild cognitive impairment or dementia: a systematic review. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2014; 38(5-6): 347-65.
14. Cassilhas RC, Lee KS, Fernandes J, Oliveira MGMD, Tufik S, Meeusen R, De Mello M. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience* 2012; 202: 309-17.
15. Ghasemi P, Gharakhanlou R, Shamsi MM, Khodadadi D. The effect of 4 weeks aerobic exercise on gene expression of glial cell derived neurotrophic factor, TNF- α and cognition in rat's hippocampus with Alzheimer's disease induced by amyloid beta. *Sport Phys* 2021; 13(49): 98-169.
16. Wang M, Zhang H, Liang J, Huang J, Chen N. Exercise suppresses neuroinflammation for alleviating Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2023; 20(1): 76.
17. Jiaxu C, Weiyi Y. Influence of acute and chronic treadmill exercise on rat brain POMC gene expression. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32(5): 954-7.
18. Imenshahidi M, Hosseinzadeh H. Berberine and barberry (*Berberis vulgaris*): a clinical review. *Phytother Res* 2019; 33(3): 504-23.
19. Fortuna T, Dantas JBdL, Araújo R, Campos EdJ, Martins GB. The role of *Matricaria Recutita* in health and dental practice: a narrative literature review. *Rev Bras Plantas Med* 2022; 24: 12-21.
20. Bahramikia S, Yazdanparast R. Antioxidant efficacy of *Nasturtium officinale* extracts using various in vitro assay systems. *J Acupunct Meridian Stud* 2010; 3(4): 283-90.
21. Petrakou K, Iatrou G, Lamari FN. Ethnopharmacological survey of medicinal plants traded in herbal markets in the Peloponnisos, Greece. *Journal of Herbal Medicine* 2020; 19: 100305.
22. Ranjbar K, Zarrinkalam E, Asl SS, Salehi I, Taheri M, Komaki A. The effect of different exercise training modes on dentate gyrus neurodegeneration and synaptic plasticity in morphine-dependent rats. *Neurochem Int* 2022; 155: 105304.
23. McKendrick G, Garrett H, Tanniru S, Ballard S, Sun D, Silberman Y, et al. A novel method to study reward-context associations and drug-seeking behaviors. *J Neurosci Methods* 2020; 343: 108857.

24. Sofiabadi M, Esmaeili MH, Haghdoost Yazdy H, Ajdari Zarmehri H. The effect of magnesium on on morphine withdrawal signs in rats [in Persian]. *J Sabzevar Univ Med Sci* 2010; 17(1): 6-12.
25. Ali Asghari Gelodar S, Ghanbari-Niaki A, Nasiri K. Effect of moderate endurance training and consumption of *Rosa Canina L.* Extract on liver enzyme profile in male rats. *J Mazandaran Univ Med Sci [in Persian]*. 2020; 30(190): 11-23.
26. Morgan JA, Singhal G, Corrigan F, Jaehne EJ, Jawahar MC, Baune BT. The effects of aerobic exercise on depression-like, anxiety-like, and cognition-like behaviours over the healthy adult lifespan of C57BL/6 mice. *Behav Brain Res* 2018; 337: 193-203.
27. Fang Y, Kelly MJ, Rønnekleiv OK. Proopiomelanocortin (POMC) mRNA expression: distribution and region-specific down-regulation by chronic morphine in female guinea pig hypothalamus. *Brain Res Mol Brain Res* 1998; 55(1): 1-8.
28. Alvaro JD, Tatro JB, Duman RS. Melanocortins and opiate addiction. *Life Sci* 1997; 61(1): 1-9.
29. Zhao R. Exercise mimetics: a novel strategy to combat neuroinflammation and Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2024; 21(1): 40.
30. Liu Y, Chu JMT, Ran Y, Zhang Y, Chang RCC, Wong GTC. Prehabilitative resistance exercise reduces neuroinflammation and improves mitochondrial health in aged mice with perioperative neurocognitive disorders. *Journal of Neuroinflammation* 2022; 19(1): 150.
31. Dantzer R, O'connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9(1): 46-56.
32. Wang Y-C, Chiu W-C, Cheng C-N, Lee C, Huang ACW. Examination of neuroinflammatory cytokine interleukin-1 beta expression in the medial prefrontal cortex, amygdala, and hippocampus for the paradoxical effects of reward and aversion induced by morphine. *Neuroscience Letters* 2021; 760: 136076.

The Effect of Aerobic Training and Supplementation of Three Herbs on Male Mice in Withdrawal from Morphine: Investigating Changes in the Expression Levels of Inflammatory Factors and POMC Genes

Mahboubeh Zibandehpour¹, Farzaneh Taghian², Khosro Jalali Dehkordi³

Original Article

Abstract

Background: This study was conducted to investigate the effect of aerobic training and consumption of three herbs (barberry, chamomile, nasturtium) on changes in inflammatory factors (TNF- α , IL-1 β) and POMC gene expression in the brain of C57BL/6 mice withdrawing from morphine.

Methods: For this purpose, 54 male C57BL/6 mice were randomly divided into nine groups. Morphine was added to water with sucrose in concentrations of 0.1, 0.2, 0.3, and 0.4 to create dependency, and the symptoms of addiction were investigated. The interventions of aerobic training and consumption of three plants were carried out for four weeks. The real-time PCR method was used for behavioral evaluation of open field tests and investigation of inflammatory factors and gene expression.

Findings: Morphine addiction increased the expression of inflammatory factors and decreased POMC gene expression and motor activity time in rats ($P < 0.0001$). In the group of drug addicts who are withdrawing methadone, a supplement of three plants, and aerobic exercise, the number of inflammatory factors did not increase in addiction compared to the healthy control group ($P > 0.05$). There was no decrease in addiction in the amount of POMC and motor activity time of this group ($P > 0.05$). Methadone consumption, the supplement of three plants and aerobic exercise, and the combination of all three decreased the expression of inflammatory factors TNF- α and IL-1 β and increased the expression level of POMC genes in the brain of rats ($P < 0.0001$), the supplement of three plants, Aerobic exercise and the combination of methadone consumption, supplement of three herbs, aerobic exercise increased the amount of motor activity time ($P < 0.0001$).

Conclusion: Aerobic training and consumption of three herbs can be effective in reducing addiction symptoms, reducing inflammatory factors, and improving central nervous system function.

Keywords: Addiction; Aerobic training; Berberis; Matricaria chamomilla; Rosa canina

Citation: Zibandehpour M, Taghian F, Jalali Dehkordi K. **The Effect of Aerobic Training and Supplementation of Three Herbs on Male Mice in Withdrawal from Morphine: Investigating Changes in the Expression Levels of Inflammatory Factors and POMC Genes.** J Isfahan Med Sch 2024; 42(767): 377-87.

1- PhD Student, Department of Sports Physiology, School of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Sports Physiology, School of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Sports Physiology, School of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Farzaneh Taghian, Associate Professor, Department of Sports Physiology, School of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran; Email: ft.taghian@gmail.com