

Effects of continuous training on modulating oxidative status and pulmonary toxicity in methamphetamine-dependent rats

Ali Saydi¹, Naser Behpoor^{1*}, Mohammad Samadi²¹Faculty of Physical Education, Razi University, Kermanshah, Iran²Exercise Physiology Research Center, Life Style Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 28 Oct 2023

revised: 5 Dec 2023

Accepted: 6 Dec 2023

ePublished: 15 Apr 2025

Keywords:

- Continuous Training
- Methamphetamine
- Pulmonary Toxicity

Abstract

Background. The lung is likely the main target of injuries related to methamphetamine. This study examined the effects of six weeks of continuous training on the oxidative status of rats with chronic lung toxicity induced by methamphetamine.

Methods. Thirty-two male Wistar rats were randomly divided into four groups of eight. Methamphetamine treatment was administered twice daily for six weeks. In the first week, each dose was intraperitoneally injected with 10mg/kg of methamphetamine. From the second to the sixth week, the injection dose increased by 1mg/kg until it reached 15mg/kg in the sixth week. The study protocol consisted of six weeks of moderate-intensity continuous training on a treadmill for 60 minutes per day, five times per week. During the initial three weeks, the speed was set at 60% of the maximum running speed, which was increased to 70% for the remaining three weeks. The data were analyzed using a one-way ANOVA with a significance level of $P \leq 0.05$.

Results. The results demonstrated that methamphetamine usage enhances the expression of serotonin, superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) in comparison to the control group ($P \leq 0.001$). Compared to the methamphetamine group, the training group, and the combination of the methamphetamine and training groups, the expression of genes encoding serotonin, SOD, and MDA significantly declined in all three groups ($P \leq 0.001$).

Conclusion. Pulmonary toxicity and free radical production resulting from methamphetamine use may cause damage to lung tissues in individuals with lung diseases.

Practical Implications. Training as a beneficial strategy can reduce the harmful consequences of methamphetamine use.

How to cite this article: Saydi A, Behpoor N, Samadi M. Effects of continuous training on modulating oxidative status and pulmonary toxicity in methamphetamine-dependent rats. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2025; 47(2): 200-210. doi:10.34172/mj. 025.33448. Persian.

*Corresponding author; Email: n_behpoor@yahoo.com

© 2025 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Background

Methamphetamine (METH) is a globally abused illegal psychostimulant. Meth-induced neurotoxicity results in serotonergic dysfunction, and ultimately, serotonin imbalance. Many studies have demonstrated that the use of methamphetamine causes pulmonary toxicity, characterized by elevated inflammatory responses and oxidative stress (OS). In contrast, other studies have found that METH raises reactive oxygen species (ROS) levels in the lungs of rats. Non-pharmacological interventions, such as exercise, can stimulate endogenous antioxidants that are already present in appropriate cellular locations and regulate the imbalanced redox status. Superoxide dismutase (SOD) is a vital defensive enzyme, and its activity has become a crucial indicator for measuring its ability to inhibit oxygen free radicals.

These free radicals attack cells and produce significant amounts of lipid peroxides, including malondialdehyde (MDA), which is an essential indicator that indirectly reflects changes in free radical content. Moderate-intensity training improves both the body's total antioxidant capacity and its resistance and tolerance against OS.

Methods

Thirty-two male Wistar rats with an age of six weeks and an average weight of 200 ± 10 g were randomly assigned to four groups of eight, including control (injection of 1 mL of 0.9% normal saline twice a day), METH, methamphetamine treatment and simultaneous continuous training (METH+training), and continuous training. The rats were administered methamphetamine twice daily over six weeks. The research implementation time was 6 weeks. During the initial week, 10mg/kg in each dose was administered intraperitoneally, dissolved in 0.9% normal saline. In the following weeks, the dose was increased by 1mg/kg every week until it reached a maximum of 15mg/kg in the sixth week. The maximum running speed (MRS) test was conducted to evaluate the rats' basic aerobic capacity. During this test, the speed was increased by 3m/min every three minutes until the rats reached

exhaustion, defined as the moment when they could no longer maintain the treadmill speed.

The maximum speed achieved was recorded as the MRS. The rats then conducted moderate-intensity continuous training on the treadmill five times a week for six weeks. In the initial three weeks, they were trained for 60 minutes a day at 60% MRS, followed by a second MRS test and another three weeks of training at 70% MRS and 60 minutes a day. Eventually, 24 hours after the end of each protocol, in an aseptic environment, the rats were anesthetized with a combination of ketamine and xylazine in a ratio of five to two, and then underwent surgery, and the lung tissue was removed. Next, RNA extraction and real-time polymerase chain reaction were conducted, and the obtained data were analyzed accordingly. A one-way ANOVA test was utilized to determine the difference between groups ($P \leq 0.05$).

Results

According to our findings, the METH group significantly increased its serotonin expression compared to the control and exercise groups ($P \leq 0.001$). Meanwhile, the training group demonstrated a significant decrease in serotonin expression in comparison to the control group ($P \leq 0.005$) and the METH+training group ($P \leq 0.004$). Additionally, the serotonin expression in the METH+training group was significantly lower compared to the METH group ($P \leq 0.001$).

The expression of SOD increased significantly in the METH group compared to the control and training groups ($P \leq 0.001$). In addition, SOD expression in the METH+training group significantly decreased in comparison to the METH group ($P \leq 0.001$). The training group represented a significant decrease in SOD expression compared to the control group ($P \leq 0.029$).

Finally, MDA expression in the METH group was significantly higher in comparison to the control and training groups ($P \leq 0.001$). The training group exhibited a significant decline in MDA expression compared to the control group ($P \leq 0.01$). Moreover, the METH+training group had a significantly

reduced expression of MDA in comparison to the METH group ($P \leq 0.001$).

Conclusion

The use of addictive drugs is likely to result in pulmonary complications, as the lung is the primary organ exposed to their products. In rats, chronic pulmonary toxicity can be induced by long-term and high-dose METH administration, and the increase in serotonin concentration in the rat lung is attributed to increased synthesis, decreased metabolism, increased accumulation, and increased secretion from the lungs. Therefore, the involvement of the serotonin

mechanism in METH-induced chronic lung toxicity can be postulated. Research suggests that methamphetamine consumption leads to lung toxicity through the promotion of OS, thus increasing cellular ROS levels. In general, the redox imbalance caused by the use of methamphetamine is a crucial factor in its toxicity. The production of free radicals may be responsible for tissue damage in various cardiopulmonary diseases. Hence, the prevention and treatment of methamphetamine-induced toxicity may benefit from consideration of the antioxidant aspect.

آثار شش هفته تمرین تداومی با شدت متوسط در تعدیل وضعیت اکسایشی و سمیت ریوی رت‌های مصرف‌کننده مت‌آمفتامین

علی صیدی^۱، ناصر بهپور^{۱*}، محمد صمدی^۳

^۱دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
^۲مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج)، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۲/۸/۶
اصلاح نهایی: ۱۴۰۲/۹/۱۴
پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۱۵
انتشار برخط: ۱۴۰۴/۱/۲۶

کلیدواژه‌ها:

- تمرین تداومی
- مت‌آمفتامین
- سمیت ریوی

چکیده

زمینه. احتمالاً ریه هدف اولیه آسیب‌های مرتبط با مصرف مت‌آمفتامین است. هدف از پژوهش حاضر بررسی آثار شش هفته تمرین تداومی بر وضعیت اکسایشی در مسمومیت مزمن ریوی رت‌های تیمار شده با مت‌آمفتامین بود.

روش کار. سی‌ودو سررت نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در چهار گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. تیمار مت‌آمفتامین به مدت شش هفته و دو بار در روز بود. در هفته اول در هر دوز مقدار ۱۰ mg/kg مت‌آمفتامین درون صفاقی به رت‌ها تزریق شد. از هفته دوم تا ششم، ۱ mg/kg به دوز تزریقی اضافه شد تا در هفته ششم دوز تزریقی به مقدار ۱۵ mg/kg رسید. پروتکل تمرینی شامل ۶ هفته تمرین تداومی روی تردمیل با شدت متوسط و به مدت ۶۰ دقیقه در روز و پنج بار در هفته (سه هفته اول سرعت به میزان ۶۰ درصد حداکثر سرعت دویدن و سه هفته دوم ۷۰ درصد) بود. جهت تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه با سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ استفاده شد.

یافته‌ها. یافته‌ها نشان دادند مصرف مت‌آمفتامین منجر به افزایش بیان سروتونین، سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی‌آلدئید نسبت به گروه کنترل می‌شود ($P \leq 0.001$). همچنین بیان ژن‌های سروتونین، سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی‌آلدئید در گروه‌های مصرف هم‌زمان مت‌آمفتامین و تمرین و گروه تمرین نسبت به گروه مصرف‌کننده مت‌آمفتامین کاهش معنی‌دار داشتند ($P \leq 0.001$).

نتیجه‌گیری. سمیت ریوی و تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از مصرف مت‌آمفتامین ممکن است مسؤول آسیب بافتی در بیماری‌های ریوی باشند.

پیامدهای عملی. تمرین به‌عنوان یک استراتژی سودمند می‌تواند پیامدهای مخرب مصرف مت‌آمفتامین را کاهش دهد.

مقدمه

مت‌آمفتامین (METH) یا کریستال ان-متیل-۱-فنیل-پروبان-۲-آمین به‌اختصار کریستال مت نیز نامیده می‌شود، یک محرک روانی غیرقانونی است که در سراسر جهان مورد سوءاستفاده قرار می‌گیرد.^۱ از میان مشتقات آمفتامینی شامل آمفتامین، مت‌آمفتامین و اکستازی، میزان مت‌آمفتامین سنتز شده افزایش سالانه بیشتری داشته است که دلیل اصلی آن می‌تواند روش آسان سنتز و راحتی دسترسی به مواد پیش ساز (افدرین) باشد.^۲ مصرف METH منجر به عدم تعادل سروتونین و در نهایت سمیت عصبی می‌شود. از این رو، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سروتونین نقش مهمی در ایجاد پرفشارخون شریانی ریوی (Pulmonary arterial

hypertension, PAH) ایفا می‌کند.^۳ سروتونین اثرات مینوتونیک و کمیتونیک بر سلول‌های اندوتلیال شریان ریوی (Artery Endothelial Cells, PAECs) و سلول‌های ماهیچه صاف شریان ریوی (Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells, PASMCs) اعمال می‌کند. مطالعه اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که سوءمصرف METH به‌طور قابل‌توجهی خطر ابتلا به PAH را افزایش می‌دهد.^۴ بر اساس نتایج پژوهش‌ها مصرف طولانی‌مدت مت‌آمفتامین منجر به تحمیل استرس اکسیداتیو بر بدن می‌شود.^۵ از طرفی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از قبیل، سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن و استرس اکسیداتیو (که به‌عنوان پیامدهای سیتوتوکسیک ROS، از جمله آسیب DNA و

* نویسنده مسؤول: ایمیل: n_behpoor@yahoo.com

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

سروتونین باشد؟ بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی پاسخ مزمن ریه به METH و بررسی اثرات اکسایشی آن می‌باشد و اینکه آیا مکانیسم سروتونین در این فرآیند پس از مواجهه طولانی مدت رت‌ها با METH درگیر است یا خیر؟

روش کار

جامعه آماری این پژوهش رت‌های نر نژاد ویستار، با سن شش هفته و میانگین وزنی 200 ± 10 گرم بود. حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار G.POWER نسخه 3.1 با توان آماری ۸۰ درصد و معناداری ۰/۰۵ برای چهار گروه ۳۲ سررت تخمین زده شد. بر این اساس، رت‌ها در یک محیط کنترل شده از نظر شرایط نگهداری (دما، رطوبت، چرخه شبانه‌روزی (۱۲:۱۲ ساعت)، سر و صدا، آب و غذا) قرار گرفتند. گروه‌بندی به شکل کاملاً تصادفی انجام شد و برای این منظور رت‌ها به چهار گروه هشت سری تقسیم شدند.

(۱) گروه سالم (تزریق ۱ ml نرمال سالین ۰/۹ درصد دو بار در روز)، (۲) گروه METH (شش هفته تیمار مت‌آمفتامین)، (۳) گروه مت‌آمفتامین و تمرین هم‌زمان (شش هفته مصرف هم‌زمان مت‌آمفتامین و اجرای پروتکل تمرینی) و (۴) گروه تمرین (اجرای شش هفته پروتکل تمرینی). در این پژوهش، موش‌های صحرایی نر از مرکز انستیتو پاستور خریداری شده و به مرکز تحقیقات علوم حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله منتقل شدند. پس از انتقال حیوانات به محیط آزمایشگاه، هر چهار سررت در یک قفس پلی کربنات شفاف (ساخت انستیتو پاستور) در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شد. شروع روشنایی ساعت هفت صبح بود و همچنین آب و غذای کافی به‌طور آزادانه در دسترس حیوانات قرار داده شد. پیش از شروع آزمایشات یک هفته برای سازش حیوانات با محیط آزمایشگاه در نظر گرفته شد.

تیمار مت‌آمفتامین

رت‌ها به مدت شش هفته و دو بار در روز (به دلیل نیمه‌عمر ۱۲ ساعته مت‌آمفتامین) تحت تیمار مت‌آمفتامین قرار گرفتند. در هفته اول در هر دوز مقدار 10 mg/kg به شکل درون‌صفاقی و محلول در نرمال سالین ۰/۹ درصد به رت‌ها تزریق شد. از هفته دوم تا ششم، هر هفته، 1 mg/kg به دوز تزریقی اضافه شد تا این‌که در هفته ششم به مقدار 15 mg/kg رسید.^{۱۶} به رت‌های گروه سالم نرمال سالین ۰/۹ درصد به مقدار یک میلی‌لیتر تزریق شد.

پراکسیداسیون لیپیدی و ... تعریف می‌شود) نقش مهمی در سمیت ناشی از مصرف METH را ایفا می‌کنند.^۶ رادیکال‌های آزاد اکسیژن به سلول‌ها حمله می‌کنند و مقادیر زیادی پراکسید لیپیدی از جمله مالون دی‌آلدئید (MDA) تولید می‌کنند. MDA می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مهم برای انعکاس غیرمستقیم تغییرات در محتوای رادیکال‌های آزاد استفاده شود.^۷

سوپراکسید دیسموتاز (SOD) رادیکال‌های آزاد اکسیژن را جارو می‌کند و واکنش زنجیره‌ای پاتولوژیک را مسدود می‌کند. SOD یک آنزیم دفاعی مهم است و فعالیت آن به یک شاخص کلیدی برای اندازه‌گیری توانایی مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن تبدیل شده است.^{۸-۹} تا به امروز، گزارش‌های زیادی در مورد اثرات تمرین هوازی حاد بر نشانگرهای استرس اکسیداتیو وجود داشته است.^{۱۰-۱۲} به‌طور خاص، تمرین با شدت متوسط هم ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بدن و هم مقاومت و تحمل آن را در برابر استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهد.^{۱۳} با این حال، وینسنت و همکاران نشان دادند که تمرینات استقامتی طولانی‌مدت (۱۲ هفته) فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در عضلات تمرین کرده افزایش می‌دهد و استرس اکسیداتیو ناشی از انقباض عضلانی یک وهله تمرین حاد را حذف می‌کند.^{۱۴}

در پژوهش ژانگ و همکاران) مصرف‌کنندگان مت‌آمفتامین در یک برنامه تمرین هوازی با شدت متوسط با سه جلسه ۳۰ دقیقه‌ای در هفته به مدت ۱۲ هفته شرکت کردند. نتایج نشان داد که بین گروه‌های تمرین و کنترل از نظر ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و سطوح SOD تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.^{۱۵} با توجه به اینکه بیشتر مواجهه با METH ماهیتاً مزمن است، در اینجا نیاز به انجام مطالعه در مورد اثرات قرار گرفتن در معرض مزمن و مکرر با METH و بررسی سمیت و تولید رادیکال آزاد ناشی از مصرف مت‌آمفتامین می‌تواند مفید باشد. با در نظر گرفتن این موارد، ما این ایده را دنبال کردیم که توجه بیشتری به پاتوژنز سمیت ریوی ناشی از مصرف METH مورد نیاز است. با توجه به اینکه بیشتر مواجهه با METH ماهیتاً مزمن است، در اینجا نیاز به انجام مطالعه در مورد اثرات قرار گرفتن در معرض مزمن و مکرر با METH و بررسی سمیت و تولید رادیکال آزاد ناشی از مصرف مت‌آمفتامین می‌تواند مفید باشد.

با در نظر گرفتن این موارد، توجه بیشتری به پاتوژنز سمیت ریوی ناشی از مصرف METH مورد نیاز است. از آن جایی که سروتونین سالهاست که به عنوان ابزاری برای القای بیماری‌های ریوی استفاده می‌شود، اکنون این سوال مطرح است که سمیت مزمن ریوی ناشی از مصرف METH می‌تواند به دلیل بیان ژن

پروتکل تمرینی

ابتدا رت‌ها به منظور آشناسازی بر روی تردمیل به مدت ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه به ترتیب برای روز اول، دوم، سوم و چهارم با سرعت پنج متر در دقیقه و شیب صفر درصد در هفته قبل از شروع پروتکل راه رفتند. پس از آشنایی رت‌ها با تردمیل، در جلسه پنجم هفته آشناسازی، برای ارزیابی ظرفیت هوازی پایه، رت‌ها تحت آزمایش حداکثر سرعت دویدن (MRS) قرار گرفتند که طی آن سرعت هر سه دقیقه به اندازه سه متر در دقیقه تا زمان رسیدن به واماندگی افزایش یافت.

واماندگی به عنوان لحظه‌ای تعریف شد که رت‌ها حتی با اعمال شوک الکتریکی دیگر قادر به دویدن مطابق با سرعت نوارگردان نبودند. در آزمایش‌های حیوانی، میانگین موقعیت حیوان روی نوارگردان را می‌توان اندازه‌گیری کرد و برای تعریف خستگی و واماندگی استفاده کرد. خستگی با تغییر موقعیت تقریبی حیوان از خط جلو به وسط نوارگردان و واماندگی به پشت خط نوارگردان همبستگی دارد. هنگامی که رت به‌طور مداوم قادر به حفظ سرعت نوارگردان نبود و سه شوک الکتریکی مداوم (یک میلی‌آمپر، سه هرتز) روی خط پشت نوارگردان دریافت می‌کرد اما بازهم قادر به ادامه دویدن نبود، دستگاه متوقف می‌شد و بلافاصله از مسیر خارج شده و در دمای اتاق به قفس منتقل می‌شد.^{۱۷}

سرعت نهایی به دست آمده پس از تشخیص واماندگی، به عنوان MRS ثبت شد.^{۱۸} در حین اجرای تمرین در صورتی که رت‌ها در خط پشت نوارگردان قرار می‌گرفتند با ایجاد صدا با زدن ضربه بر روی درپوش نوارگردان به دویدن ادامه می‌دادند و با توجه به شدت متوسط فعالیت، تمرین را به پایان می‌رساندند. دوره تمرینی با شدت متوسط پنج بار در هفته و به مدت شش هفته، روی تردمیل انجام شد.^{۱۹} در سه هفته اول سرعت به میزان ۶۰ درصد MRS و به مدت ۶۰ دقیقه در روز و در سه هفته دوم مجدداً تست MRS اجرا و سرعت برای سه هفته دوم به میزان ۷۰ درصد MRS و مدت ۶۰ دقیقه در روز، تنظیم شد.^{۲۰} در انتهای اجرای پژوهش، ۲۴ ساعت پس از پایان هر پروتکل، در محیطی آسپتیک، رت‌ها با ترکیب کتامین و زایلازین با نسبت پنج به دو بی‌هوش و سپس تحت جراحی قرار گرفته و قربانی شدند.

بافت برداری

پس از جراحی و قربانی شدن رت‌ها بافت ریه خارج گردید. ریه‌ها به سرعت پس از خارج شدن از بدن با محلول PBS شستشو داده شدند و سپس در محلول RNA Later در لوله فالکن ۱۵ میلی‌لیتری و در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از فریز شدن، ریه‌ها را به حجم ۷۵-۸۰ میلی‌گرم برش داده و در

محلول تریزول (TRIZOL) و مجدداً در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از هموژنیزه کردن بافت‌ها برای ایجاد مخلوطی همگن و یکدست، مراحل استخراج RNA انجام شد. پس از استخراج RNA، کمیت و کیفیت آن با استفاده از دستگاه Nanodrop و الکتروفورز ژل آگارز بررسی گردید. پس از آن مراحل ساخت DNA مکمل با cDNA انجام شد.

در مراحل بعد برای طراحی پرایمر از سایت primer3 استفاده شد و با نرم‌افزار Oligo Analyzer مورد بررسی قرار گرفت. سپس مراحل Real Time PCR اجرا و آنالیز داده‌های مربوطه صورت پذیرفت. جدول ۱ توالی پرایمر ژن‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

روش آماری

داده‌های توصیفی برحسب میانگین و انحراف استاندارد نشان داده شده است. از آزمون شاپیروویلک برای بررسی چگونگی توزیع داده‌ها استفاده شد. پس از مشاهده توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. در مرحله بعد، جهت تعیین دقیق تفاوت بین گروه‌ها، آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نهایتاً عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و با سطح معناداری $P \leq 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها

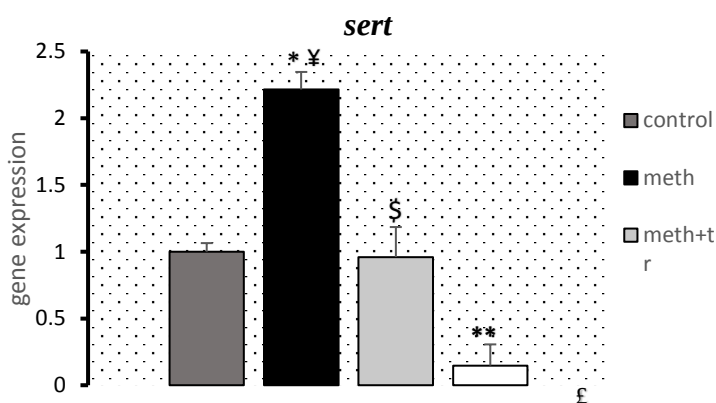
بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، میزان سروتونین در گروه METH $(2.22/1.3) \pm 0.2$ بیشتر از گروه‌های CON (1.06 ± 0.1) ، METH+TR $(2.96/2.2) \pm 0.07$ و TR $(1.15/0.16) \pm 0.07$ بود. مشخص شد که بیان ژن SERT در گروه METH نسبت به گروه‌های CON و TR افزایش معنی‌دار داشت ($P \leq 0.001$). علاوه بر این، بیان ژن SERT در گروه TR نسبت به گروه CON ($P \leq 0.005$) و گروه METH+TR ($P \leq 0.004$) کاهش معنی‌دار داشت. همچنین بیان SERT در گروه METH+TR نسبت به گروه METH کاهش معنی‌داری داشت ($P \leq 0.001$) (شکل ۱).

میزان SOD در گروه METH $(4.79/6.9) \pm 0.4$ بیشتر از گروه‌های CON (1.29 ± 0.1) ، METH+TR $(6.7/7.4) \pm 0.07$ و TR $(0.5/0.2) \pm 0.07$ بود. نتایج نشان داد که بیان ژن SOD در گروه METH نسبت به گروه‌های CON و TR افزایش معنی‌دار داشت ($P \leq 0.001$). از طرفی، بیان ژن SOD در گروه METH+TR نسبت به گروه METH کاهش معنی‌داری یافت ($P \leq 0.001$) (شکل ۲).

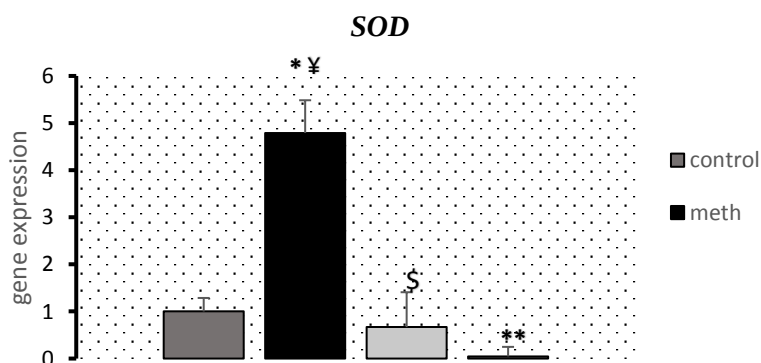
همچنین، میزان MDA در گروه METH ($6/0 \pm 1/47$) بیشتر از گروه‌های CON ($1/13 \pm 0/01$)، METH+TR ($0/0 \pm 71/38$) و TR ($0/0 \pm 34/2$) بود. بیان ژن MDA در گروه TR نسبت به گروه CON کاهشی معنی‌دار داشت ($P \geq 0/03$). بیان ژن MDA در گروه METH نسبت به گروه‌های CON و TR افزایش معنی‌دار داشت

جدول ۱. توالی پرایمر ژن‌های مورد مطالعه

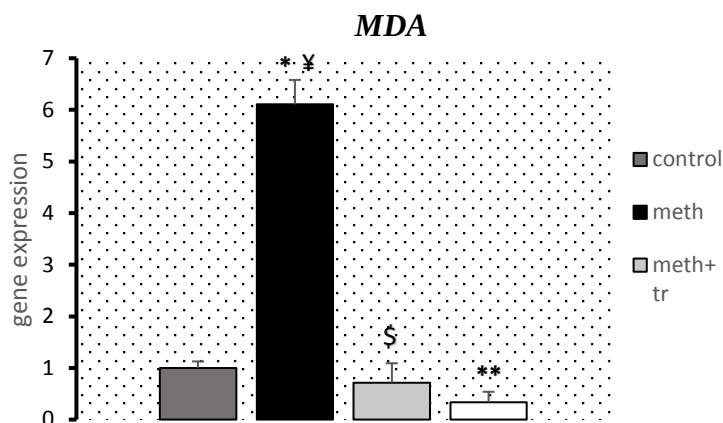
Gene	Sequence (5'→3')	Product length
Rattus norvegicus solute carrier family 6 member 4 (Slc6a4) (serotonin)	Forward: CATCGTGCTCATCTTCACCG	162 nt
	Reverse: TAGAAGACGACCCCTCTCCA	
Rattus norvegicus superoxide dismutase (Sod)	Forward: GCGTCATTCACTTCGAGCAG	123 nt
	Reverse: AGCCTTGTTGTATTGTCCCA	
Rattus norvegicus aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1 (Aldh1a1) (MDA)	Forward: GCGATCTCCTCTCACATGGA	187 nt
	Reverse: CATGGTGTGCAAACTCGACA	



شکل ۱. میانگین $\pm$ انحراف معیار میزان بیان نسبی ژن سروتونین در بافت ریه نسبت به ژن GAPDH در گروه‌های مورد آزمایش * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، ¥ اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین، \$ اختلاف معنی‌دار با گروه METH، ** اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، £ اختلاف معنی‌دار با گروه METH+TR



شکل ۲. میانگین $\pm$ انحراف معیار میزان بیان نسبی ژن SOD در بافت ریه نسبت به ژن GAPDH در گروه‌های مورد آزمایش * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، ¥ اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین، ** اختلاف معنی‌دار با گروه METH، \$ اختلاف معنی‌دار با گروه METH+TR



شکل ۳. میانگین $\pm$ انحراف معیار میزان بیان نسی ژن MDA در بافت ریه نسبت به ژن GAPDH در گروه‌های مورد آزمایش
* اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، ¥ اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین، ** اختلاف معنی‌دار با گروه METH، \$ اختلاف معنی‌دار با گروه METH

بحث

در پژوهش‌های پیشین گزارش شده دوز بالای METH باعث ایجاد سمیت آشکار ریوی می‌شود. همسو با نتایج این پژوهش وانگ و همکاران نشان دادند که مصرف مزمن دوزهای بالای مت‌آمفتامین (۱۰ mg/kg و ۵) منجر به نشر سلول‌های التهابی به بافت ریه موش شده، همچنین پارانشیم ریه به خاطر ضخیم‌تر شدن سیتوم، متراکم‌تر شده است و تعداد کیسه‌های آلوئولی به میزان قابل توجهی کاهش یافته است و در دیواره‌های داخلی شریان‌های ریوی تغییرات مشخص هیپرتروفیک یا هیپرپلاستیک ایجاد شده است. دوز بالای METH منجر به افزایش قابل توجه غلظت سروتونین در بافت ریه و تنظیم مثبت TPH، VMAT-2 و SERT و کاهش MAO-A می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که سمیت مزمن ریوی ناشی از METH با افزایش سنتز، کاهش متابولیسم، افزایش تجمع و افزایش ترشح سروتونین، با سطح بالای سروتونین در ریه‌های موش همراه است.^{۲۲} بر اساس شواهد افزایش سروتونین پلاسما در پاتوزن بیماری‌های ریوی دخیل بوده است. سروتونین یک میتوزن برای طیف گسترده‌ای از انواع سلول، از جمله سلول‌های اندوتلیال ریوی موش صحرایی و انسان، سلول‌های ماهیچه صاف و میوفیبروبلاست‌ها است.^{۲۳}

در پژوهش حاضر به دلیل محدودیت‌های فراوان امکان بررسی این موارد وجود نداشت اما با توجه به دوز مصرفی بالاتر در پژوهش حاضر موارد ذکر شده پیشین کاملاً مورد انتظار است و به‌طور خلاصه می‌توان اذعان داشت که مکانیسم سروتونین می‌تواند در سمیت مزمن ریوی ناشی از مصرف METH دخیل باشد. بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، بیان SOD در گروه مصرف‌کننده مت‌آمفتامین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشت. همچنین بیان SOD در گروهی که فقط برنامه

این مطالعه بر روی پاسخ مزمن ریه رت‌هایی بود که در معرض مصرف طولانی‌مدت METH قرار داده شده بودند. در این پژوهش برای ارزیابی نقش سروتونین در آسیب ریه ناشی از مصرف METH، بیان سروتونین ریه در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج، بیان سروتونین در گروه مصرف‌کننده مت‌آمفتامین بیش از دو برابر گروه کنترل بود و افزایش معنی‌دار داشت.

در گروه مصرف هم‌زمان مت‌آمفتامین و تمرین و همچنین گروه تمرین به تنهایی، کاهش معنی‌دار بیان سروتونین نسبت به گروه مصرف‌کننده مت‌آمفتامین مشاهده شد. بنابراین با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که مداخلاتی مانند اجرای تمرینات ورزشی می‌تواند به‌طور آشکار از میزان سمیت سروتونین در ریه‌ها بکاهد. در پژوهش اراضی و دادوند، هشت هفته تمرینات هوازی در مصرف‌کنندگان مت‌آمفتامین باعث افزایش معنی‌داری در سطوح خونی سروتونین در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل شد.^{۲۱}

نتایج این پژوهش با پژوهش حاضر ناهم‌سو است و این ناهم‌سوئی می‌تواند به این علت باشد که نمونه‌های خونی پلاسمایی از آزمودنی‌های انسانی گرفته شد، در حالی که در پژوهش حاضر بیان ژن سروتونین در بافت ریه رت‌های مصرف‌کننده مت‌آمفتامین سنجیده شد. این تناقض احتمالاً به این دلیل است که اثرات بلندمدت مصرف METH به دلیل افزایش غلظت سروتونین در ریه موش توسط افزایش سنتز، کاهش متابولیسم، افزایش انباشت، و افزایش ترشح آن است که این موارد ممکن است در نمونه خونی دیده نشود.

تمرینی داشتند نسبت به گروه کنترل و گروه مصرف کننده مت آمفتامین کاهش معنی دار داشت. علاوه بر این بیان SOD در گروهی که به طور همزمان مداخله مت آمفتامین و تمرین داشتند نسبت به گروه مصرف کننده مت آمفتامین کاهش معنی دار داشت که بازهم نقش تمرین در تعدیل وضعیت اکسایشی ناشی از مصرف مت آمفتامین را پررنگ می کند. استرس اکسیداتیو منجر به فعال شدن مکانیسم سازگاری می گردد که به حفاظت سلول ها در برابر سمیت با واسطه ROS و به حفظ تعادل اکسایشی-کاهشی بافت کمک می کند.

این پاسخ به استرس شامل افزایش بیان آنزیم های آنتی اکسیدانی اندوژن از جمله SOD می باشد.^۶ در مطالعه حاضر نیز به نظر می رسد تزریق کریستال مت با القای استرس اکسیداتیو منجر به افزایش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز می شود که احتمالاً به عنوان یک مکانیسم حفاظتی علیه سمیت سلولی با واسطه ROS عمل می کند. در پژوهش محمدی و همکاران کاهش سطوح فعالیت SOD در رت های مصرف کننده مت آمفتامین گزارش شد که این یافته با نتایج پژوهش حاضر همسو نبود.^{۲۴} در این پژوهش القای مت آمفتامین به مدت سه هفته و به میزان ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن و یک بار در روز صورت پذیرفت. بر این اساس احتمالاً به دلیل تفاوت در شیوه تیمار و مدت زمان القای مت آمفتامین نتایج این پژوهش با یافته های پژوهش ما همخوانی ندارد.

در پژوهش های وانگ و همکاران و شی و همکاران القای مت آمفتامین با دوز افزایشی ۱۰ mg/kg در هفته اول و افزایش ۱۵ mg/kg به ازای هر هفته تا هفته ششم و رسیدن به دوز ۱۵ mg/kg که کاملاً با پژوهش حاضر یکسان بودند نشان داده شد که آنزیم اکسیداتیو سوپراکسید دیسموتاز که نشان دهنده میزان آسیب استرس اکسیداتیو در ریه ها است، در گروه مصرف کننده METH به شدت بیان می شود.^{۲۶،۲۵} گزارش شده است که METH می تواند به شدت سطوح ROS را در ریه های موش افزایش دهد. تجمع بیش از حد ROS باعث آپوپتوز اپی تلیال آلوئولی و سمیت ریوی می شود. بنابراین، اختلال در یکپارچگی اپی تلیال آلوئولی کلید آسیب مزمن ریه ناشی از مصرف METH است.^{۱۶}

پراکسیداسیون لیپیدی یکی از بهترین پارامترهای اندوژن با کاربرد وسیع برای نشان دادن میزان فعالیت ROS می باشد. مالون دی آلدئید (MDA) محصول پراکسیداسیون لیپیدی است و به عنوان یک نشانگر قابل اعتماد استرس اکسیداتیو تأیید شده است. با این حال، سلول ها به مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی، از جمله ویتامین E، گلووتاتیون (GSH) و سیستم های آنزیمی درونزا (مانند

SOD، کاتالاز (CAT) و گلووتاتیون پراکسیداز (GPX)) مجهز هستند. عدم تعادل پرو اکسیدان و آنتی اکسیدان به نفع اولی ممکن است باعث آسیب اکسیداتیو شود.^{۲۷} در پژوهش حاضر بیان MDA در ریه موش های گروه مصرف کننده مت آمفتامین حدود شش برابر گروه کنترل بود که این افزایش معنی دار برای این شاخص، نشانه تولید بیش از اندازه پراکسیداسیون لیپیدی است. همچنین بیان MDA در گروهی که فقط برنامه تمرینی داشتند نسبت به گروه کنترل و گروه مصرف کننده مت آمفتامین کاهش معنی دار داشت. ضمن این که بیان MDA در گروه مصرف همزمان مت آمفتامین و تمرین نسبت به گروه مصرف کننده مت آمفتامین کاهش معنی دار داشت که احتمالاً می توان اظهار داشت که تمرین به عنوان استراتژی مفیدی در کاهش مقادیر پراکسیداسیون لیپیدی نقش مهم و مؤثری دارد. همسو با یافته های پژوهش حاضر، مطالعات حیوانی نشان می دهد که القای METH می تواند سطوح MDA را افزایش داده و فعالیت درون زای SOD، CAT، GPX را تغییر دهد، در حالی که سطح تام آنتی اکسیدانی را کاهش می دهد.^{۲۹،۲۸}

همسو با یافته های پژوهش حاضر در مطالعه بافتی و همکاران سطح MDA در گروه مصرف کننده METH در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. از سویی تمرین تناوبی با شدت متوسط به طور معنی داری سطح MDA را در مقایسه با گروه METH کاهش داد.^{۳۰}

نتیجه گیری

از آنجایی که ریه ها ارگان اصلی در معرض محصولات مواد اعتیادآور هستند، انتظار می رود که عوارض ریوی در میان پیامدهای سلامتی ناشی از مصرف این مواد برجسته باشد. به طور خلاصه، مصرف طولانی مدت و دوز بالای METH باعث ایجاد سمیت مزمن ریوی در موش ها می شود و اثرات METH به دلیل افزایش غلظت سروتونین در ریه موش توسط افزایش سنتز، کاهش متابولیسم، افزایش انباشت، و افزایش ترشح است. از این رو، مکانیسم سروتونین می تواند در سمیت مزمن ریوی ناشی از METH دخیل باشد. همچنین بر اساس پژوهش ها گزارش شده است که سمیت ریه ناشی از مصرف مت آمفتامین نیز با استرس اکسیداتیو مرتبط است. این سمیت با افزایش ROS سلولی همراه است و در مجموع، عدم تعادل ردوکس ناشی از مصرف مت آمفتامین دلیل مهمی برای سمیت آن است. تولید رادیکال های آزاد ممکن است مسئول آسیب بافتی در بیماری های قلبی ریوی مختلف باشد. بنابراین می توان پیشگیری و درمان مسمومیت ناشی از مت آمفتامین را از جنبه آنتی اکسیدانی مورد

دسترس‌پذیری داده‌ها

مجموعه داده‌ها در صورت درخواست معقول از نویسنده مسؤول در دسترس است.

ملاحظات اخلاقی

تمام مداخلات مرتبط با حیوانات مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسات ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه رازی کرمانشاه با کد IR.RAZI.REC.1401.078 مصوب شد

تعارض منافع

مؤلفان اظهار می‌کنند که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند.

توجه قرار داد. پیشنهاد می‌شود که در پژوهش‌های آینده به بررسی شدت‌های مختلف تمرین هوازی و بیان دیگر فاکتورهای اکسایشی مانند کاتالاز، GPX و ... پرداخته شود.

قدردانی

پژوهشگران این طرح از تمامی پرسنل محترم مرکز تحقیقات علوم حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) صمیمانه تشکر می‌کنند.

مشارکت پدیدآوران

علی صیدی، نگارش متن و تحلیل و تفسیر داده‌ها و جمع‌آوری؛ ناصر بهپور، طراحی اثر و ایده‌پردازی و محمد صمدی نقد و بررسی را بر عهده داشت.

منابع مالی

ندارد.

References

- Jayanthi S, Daiwile AP, Cadet JL. Neurotoxicity of methamphetamine: Main effects and mechanisms. *Experimental neurology*. 2021;344:113795. doi: 10.1016/j.expneurol.2021.113795
- Kelly KA, Miller DB, Bowyer JF, O'Callaghan JP. Chronic exposure to corticosterone enhances the neuroinflammatory and neurotoxic responses to methamphetamine. *Journal of neurochemistry*. 2012;122(5):995-1009. doi: 10.1111/j.1471-4159.2012.07864.x
- Gonçalves J, Baptista S, Martins T, Milhazes N, Borges F, Ribeiro CF, et al. Methamphetamine-induced neuroinflammation and neuronal dysfunction in the mice hippocampus: preventive effect of indomethacin. *European Journal of Neuroscience*. 2010;31(2):315-26. doi: 10.1111/j.1460-9568.2009.07059.x
- Rothman RB, Baumann MH. Methamphetamine and idiopathic pulmonary hypertension: role of the serotonin transporter. *Chest*. 2007;132(4):1412-3. doi: 10.1378/chest.07-0235.
- Solhi H, Malekiran A, Mohammad Kazemifar A, Sharifi F. Oxidative stress and lipid peroxidation in prolonged users of methamphetamine. *Drug metabolism letters*. 2013;7(2):79-82. doi: 10.2174/187231280702140520191324.
- Kita T, Miyazaki I, Asanuma M, Takeshima M, Wagner GC. Dopamine-induced behavioral changes and oxidative stress in methamphetamine-induced neurotoxicity. *International review of neurobiology*. 2009;88:43-64. doi: 10.1016/S0074-7742(09)88003-3.
- Xia Z, Chen Y, Fan Q, Xue M. Oxidative stress-mediated reperfusion injury: mechanism and therapies. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2014;2014:373081. doi: 10.1155/2014/373081.
- Yu F, Xue W, Dong L, Hu X, Huang D, Wang K. Tetrahydroxystilbene glucoside suppresses NADPH oxidative stress to mitigate apoptosis and autophagy induced by cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2019;2019:3913981. doi: 10.1155/2019/3913981.
- Adibhatla RM, Hatcher JF. Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*. 2010;12(1):125-69. doi: 10.1089/ars.2009.2668
- Powers SK, Radak Z, Ji LL. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. *The Journal of physiology*. 2016;594(18):5081-92. doi: 10.1113/JP270646
- Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports medicine*. 2006;36:327-58. doi: 10.2165/00007256-200636040-00004.
- Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological reviews*. 2008;88(4):1243-76. doi: 10.1152/physrev.00031.2007
- Powers SK, Deminice R, Ozdemir M, Yoshihara T, Bomkamp MP, Hyatt H. Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe?. *Journal of sport and health*

- science. 2020;9(5):415-25. doi: 10.1016/j.jshs.2020.04.001.
14. Vincent HK, Powers SK, Demirel HA, Coombes JS, Naito H. Exercise training protects against contraction-induced lipid peroxidation in the diaphragm. *European journal of applied physiology and occupational physiology.* 1999;79:268-73. doi: 10.1007/s004210050505.
 15. Zhang K, Zhang Q, Jiang H, Du J, Zhou C, Yu S, Hashimoto K, Zhao M. Impact of aerobic exercise on cognitive impairment and oxidative stress markers in methamphetamine-dependent patients. *Psychiatry research.* 2018;266:328-33. doi: 10.1016/j.psychres.2018.03.032.
 16. Liang LY, Wang MM, Liu M, Zhao W, Wang X, Shi L, et al. Chronic toxicity of methamphetamine: oxidative remodeling of pulmonary arteries. *Toxicology In Vitro.* 2020;62:104668. doi: 10.1016/j.tiv.2019.104668.
 17. Zaretsky DV, Kline H, Zaretskaia MV, Rusyniak DE. Automatic analysis of treadmill running to estimate times to fatigue and exhaustion in rodents. *PeerJ.* 2018;6:e5017. doi: 10.7717/peerj.5017
 18. Li WW, Sabsovich I, Guo TZ, Zhao R, Kingery WS, Clark JD. The role of enhanced cutaneous IL-1 β signaling in a rat tibia fracture model of complex regional pain syndrome. *PAIN®.* 2009;144(3):303-13. doi: 10.1016/j.pain.2009.04.033.
 19. Rossi EM, Ávila RA, Carneiro MT, Almenara CC, Dos Santos L. Chronic iron overload restrains the benefits of aerobic exercise to the vasculature. *Biological trace element research.* 2020;198(2):521-34. doi: 10.1007/s12011-020-02078-y.
 20. Ávila RA, Rossi EM, de Carvalho GM, Krause M, Leopoldo AS, Carneiro MT, et al. Moderate-intensity aerobic training reduces cardiac damage attributable to experimental iron overload in rats. *Experimental Physiology.* 2021;106(8):1772-84. doi: 10.1113/EP089429.
 21. Arazi H, Dadvand SS. The effect of eight week aerobic training on plasma levels of serotonin and depression in addicted men to methamphetamine during rehabilitation. *Alborz University Medical Journal.* 2017;6(1):66-74. doi: 10.18869/acadpub.aums.6.1.66
 22. Wang Y, Liu M, Wang HM, Bai Y, Zhang XH, Sun YX, et al. Involvement of serotonin mechanism in methamphetamine-induced chronic pulmonary toxicity in rats. *Human & experimental toxicology.* 2013;32(7):736-46. doi: 10.1177/0960327112468174.
 23. MacLean MM. The serotonin hypothesis in pulmonary hypertension revisited: targets for novel therapies (2017 Grover Conference Series). *Pulmonary Circulation.* 2018;8(2):2045894018759125. doi: 10.1177/2045894018759125.
 24. Mohammadi N, Taheri P, Shahmoradi E, Motaghinejad M, Gholami M, Motevalian M. Preventive effects of duloxetine against methamphetamine induced neurodegeneration and motor activity disorder in rat: Possible role of CREB/BDNF signaling pathway. *International Journal of Preventive Medicine.* 2019;10:195. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_53_18.
 25. Wang X, Liu M, Zhu MJ, Shi L, Liu L, Zhao YL, et al. Resveratrol protects the integrity of alveolar epithelial barrier via SIRT1/PTEN/p-Akt pathway in methamphetamine-induced chronic lung injury. *Cell Proliferation.* 2020;53(3):e12773. doi: 10.1111/cpr.12773.
 26. Shi L, Liu BY, Wang X, Zhu MJ, Chen L, Zhou MY, et al. RUNX3-dependent oxidative epithelial-to-mesenchymal transition in methamphetamine-induced chronic lung injury. *Cell Stress and Chaperones.* 2020;25:793-802. doi: 10.1007/s12192-020-01133-w
 27. Huang MC, Lin SK, Chen CH, Pan CH, Lee CH, Liu HC. Oxidative stress status in recently abstinent methamphetamine abusers. *Psychiatry and clinical neurosciences.* 2013;67(2):92-100. doi: 10.1111/pcn.12025.
 28. Gluck MR, Moy LY, Jayatilleke E, Hogan KA, Manzano L, Sonsalla PK. Parallel increases in lipid and protein oxidative markers in several mouse brain regions after methamphetamine treatment. *Journal of neurochemistry.* 2001;79(1):152-60. doi: 10.1046/j.1471-4159.2001.00549.x
 29. Melo P, Rodrigues LG, Pinazo-Durán MD, Tavares MA. Methamphetamine and lipid peroxidation in the rat retina. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology.* 2005;73(6):455-60. doi: 10.1002/bdra.20138.
 30. Bafti AS, Haghighi AH, Askari R, Keyhani A, Asadi-Shekaari M. Moderate-intensity interval training (MIT) can protect rats against Methamphetamine-induced injuries. 2021;PREPRINT (Version 1) available at Research Square. doi: 10.21203/rs.3.rs-1021997/v1