



Research Article

The Effect of Eight Weeks of High-Intensity Interval Training on Cardiac PARP-1 Gene Expression in Methamphetamine-Dependent Male Rats

Hadi Shahrabadi¹, Amir Hossein Haghighi^{2,*}, Roya Askari³, Majid Asadi-Shekaari⁴

¹Ph.D Student of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

²Professor of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

³Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

⁴Professor of Medical Histology, Neuroscience Research Center, Neuropharmacology Institute, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

***Corresponding author:** Amir Hossein Haghighi, Professor of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran. E-mail: ah.haghighi@hsu.ac.ir

DOI: [10.52547/nkums.14.1.45](https://doi.org/10.52547/nkums.14.1.45)

How to Cite this Article:

Shahrabadi H, Haghighi AH, Askari R, Asadi-Shekaari M. The Effect of Eight Weeks of High-Intensity Interval Training on Cardiac PARP-1 Gene Expression in Methamphetamine-Dependent Male Rats. *J North Khorasan Univ Med Sci.* 2022;**14**(1):45-51. DOI: [10.52547/nkums.14.1.45](https://doi.org/10.52547/nkums.14.1.45)

Received: 11 Dec 2021

Accepted: 04 Apr 2022

Keywords:

High-Intensity Interval Training
PARP-1
Methamphetamine
Heart

Abstract

Introduction: One of the markers that change due to deoxyribonucleic acid (DNA) damage and the production of free radicals in the poly (ADP-ribose) Polymerase-1 (PARP-1) gene, which plays an essential role in inflammation, apoptosis, and necrosis. This study aimed to evaluate the effect of eight weeks of high-intensity interval training on cardiac PARP-1 gene expression in methamphetamine-dependent male rats.

Method: In an experimental study, rats were divided into four groups sham, methamphetamine, methamphetamine-control, and methamphetamine-high-intensity interval training, using a simple random technique. First, methamphetamine was injected for 21 days. At the end of this phase, the methamphetamine-high-intensity interval training group performed high-intensity interval training for eight weeks and five sessions per week. In the present study, the left ventricular tissue of rats' hearts was used to evaluate the PARP-1 expression gene. Data were analyzed using the GraphPad Prism 8 software at a $P < 0.05$.

Results: The results showed that 21 days of methamphetamine injection increased the cardiac PARP-1 expression gene in the methamphetamine group compared to the sham group ($P = 0.025$). Eight weeks of high-intensity interval training did not decrease the expression of this gene in the methamphetamine-high-intensity interval training group compared to methamphetamine ($P = 0.974$) and methamphetamine-control ($P = 0.993$) groups.

Conclusion: Chronic methamphetamine use has increased the cardiac PARP-1 expression gene in rats. In the treatment field, high-intensity interval training cannot reduce the expression of this gene. Given that little research has been done in this field and the molecular mechanisms involved in this pathway are not well understood, researchers are suggested to do further research in this field.



تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن PARP-1 قلبی در موش‌های صحرایی نر وابسته به متامفتامین

هادی شهرآبادی^۱، امیرحسین حقیقی^{۲*}، رؤیا عسکری^۳، مجید اسدی شکاری^۴

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
^۲ استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
^۳ دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
^۴ استاد بافت شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

* نویسنده مسئول: امیرحسین حقیقی، استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران. ایمیل: ah.haghighi@hsu.ac.ir

DOI: 10.52547/nkums.14.1.45

چکیده مقدمه: یکی از شاخص‌هایی که در اثر آسیب DNA و تولید رادیکال‌های آزاد دچار تغییر می‌شود، ژن PARP-1 است که در بروز التهاب، آپوپتوزیس و نکروزیس نقش مهمی دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن PARP-1 قلبی در موش‌های صحرایی نر وابسته به متامفتامین بود.	تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۱۵
روش کار: در یک مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی به کمک روش تصادفی ساده در چهار گروه، متامفتامین، متامفتامین-کنترل و متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا قرار گرفتند. ابتدا تزریق متامفتامین به مدت ۲۱ روز انجام شد. بعد از پایان این مرحله گروه متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته، تمرین تناوبی با شدت بالا را انجام دادند. در مطالعه حاضر بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی برای بررسی میزان بیان ژن PARP-1 مورد استفاده قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۸ در سطح معناداری $P < 0.05$ تجزیه و تحلیل شد. یافته‌ها: نتایج نشان داد که ۲۱ روز تزریق متامفتامین باعث افزایش میزان بیان ژن PARP-1 قلبی در گروه متامفتامین در مقایسه با گروهش می‌شود ($P=0.025$) و ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا باعث کاهش میزان بیان این ژن در گروه متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا در مقایسه با گروه‌های متامفتامین ($P=0.974$) و متامفتامین-کنترل ($P=0.993$) نمی‌شود. نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که مصرف مزمن متامفتامین باعث افزایش بیان ژن PARP-1 قلبی در موش‌های صحرایی شده است و در حیطه درمانی، تمرینات تناوبی با شدت بالا قادر به کاهش بیان این ژن نیست. با توجه به اینکه در این زمینه تحقیقات کمی صورت گرفته است و مکانیسم‌های مولکولی درگیر در این مسیر به خوبی روشن نشده است، به پژوهشگران پیشنهاد می‌شود در این زمینه تحقیقات بیشتری انجام دهند.	واژگان کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا PARP-1 متامفتامین قلب

مقدمه

کیلوالتون است که دارای بخش‌های اتصال دهنده NAD^+ ، DNA و خودتعدیلی می‌باشد (۷، ۸). PARP-1 بیشترین فعالیت را در بین آنزیم‌های PARP دارد (۹). به‌عنوان یک سنسور آسیب DNA فعالیت می‌کند و در پاسخ به شکاف‌های تک رشته‌ای DNA در اثر تولید رادیکال‌های آزاد فعال می‌شود (۱۰). در شرایط فیزیولوژیکی، فعالیت ناچیز PARP-1، برخی از فعالیت‌های سلولی از جمله ترمیم DNA، رونویسی ژن، بقا سلول و بازسازی کروماتین را تنظیم می‌کند (۱۱-۱۳). فعالیت بیش از اندازه PARP-1 باعث تخلیه NAD می‌شود که متعاقب آن مرگ سلولی اتفاق می‌افتد (۱۳، ۱۴). مطالعات نشان دادند که فعالیت این آنزیم باعث تشکیل PAR می‌گردد که منجر به دپلاریزاسیون میتوکندری و آزاد شدن AIF از میتوکندری

متامفتامین یکی از مشتقات آمفتامین است که پتانسیل اعتیادآوری بالایی دارد (۱). این ماده یکی از پر مصرف‌ترین داروهای غیرقانونی در ایران است (۲). مصرف مزمن متامفتامین با عوارض مزمن قلبی-عروقی مانند التهاب قلب و کاردیومیوپاتی همراه است. احتمال ابتلا به بیماری کاردیومیوپاتی در افراد معتاد به متامفتامین ۳/۷ برابر افراد عادی است (۳). مصرف مزمن متامفتامین منجر به هایپرتروفی کاردیومیوسیت، تخریب موضعی، نکروزیس، آپوپتوزیس، فیبروزیس، درجات مختلف آترواسکلروزیس، کاهش عملکرد قلبی و تغییرات ریخت‌شناسی میتوکندری می‌شود (۴-۶). PARP-1 یک پروتئین مرتبط با کروماتین است که در بیشتر یوکاریوت‌ها وجود دارد. این آنزیم یک پروتئین با وزن مولکولی ۱۱۶

که تمایل شرکت کنندگان برای انجام این نوع تمرینات افزایش یابد (۲۵). با وجود این که تمرینات تناوبی با شدت بالا باعث تغییرات مولکولی، ساختاری و عملکردی قلب از جمله بهبود شاخص های آنتی اکسیدانی (۲۶، ۲۷) و ضد آپوپتوزی (۲۷)، هایپرتروفی (۲۸) و عملکرد بطن چپ (۲۷، ۲۹) می شود، با بررسی مطالعات پیشین، نقش مداخله گر تمرینات تناوبی با شدت بالا و میزان شدت و روش به کارگیری این تمرینات بر بیان ژن PARP-1 در مصرف کنندگان متامفتامین هنوز مشخص نیست. همچنین به علت شیوع مصرف بسیار بالای متامفتامین و هزینه های درمانی که مصرف کنندگان این ماده مخدر بر خانواده ها و جامعه وارد می کنند (۳۰)، محقق قصد دارد در مطالعه حاضر به این سؤال پاسخ دهد که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا چه تاثیری بر بیان ژن PARP-1 بافت بطن چپ قلب در موش های صحرایی نر وابسته به متامفتامین دارد.

روش کار

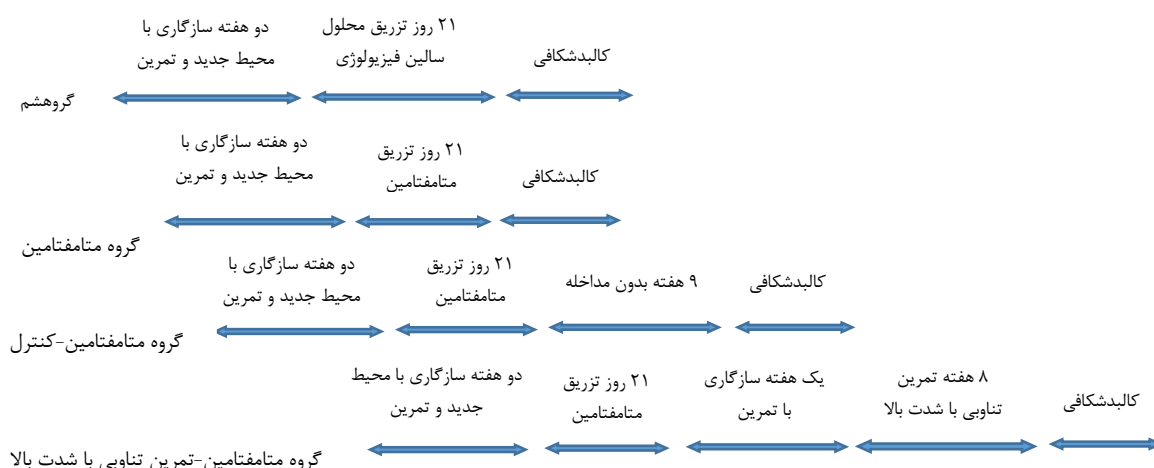
طراحی مطالعه و حیوانات

مطالعه حاضر از نوع تجربی می باشد. در ابتدا، ۴۵ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با دامنه وزنی ۲۲۰-۱۸۰ گرم از مرکز آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شد. موش های صحرایی به کمک روش تصادفی ساده (قرعه کشی) در چهار گروه ششم، متامفتامین، متامفتامین-کنترل و متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا قرار گرفتند. همچنین این ۴ گروه براساس برنامه و طرح شکل ۱ تحت مطالعه قرار گرفتند. قابل ذکر است در این مطالعه ۵ سر موش صحرایی به علت عدم سازگاری با تمرین و در ادامه ۸ سر موش صحرایی به علت تلف شدن و عدم تکمیل پروتکل تمرین از مطالعه خارج شدند. در نهایت داده های ۳۲ سر موش صحرایی (۸ سر موش صحرایی در هر گروه) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

می شود و متعاقب آن آپوپتوزیس اتفاق می افتد. همچنین AIF، آزاد شدن سیتوکروم c از میتوکندری و متعاقب آن فعالیت کاسپازها را افزایش می دهد (۱۵). شواهد نشان می دهد که فعالیت بیش از حد PARP-1 یک نقش اساسی در بیماری های قلبی-عروقی دارد (۱۶). همچنین مهار PARP-1 باعث کاهش آپوپتوزیس کاردیومیوسیت ها از طریق تنظیم منفی کاسپازها و افزایش فعالیت مسیر AKT/IGF-1R می شود (۱۷). در کل مطالعات نشان دادند که PARP-1 در تعمیر DNA، تنظیم رونویسی، التهاب، بازسازی کروماتین، آپوپتوزیس و نکروزیس نقش مهمی دارد (۷، ۸).

متامفتامین احتمالاً از طریق افزایش استرس اکسیداتیو و آسیب DNA در بافت های مختلف بدن (۱۸) باعث افزایش بیان ژن PARP-1 شود. در این راستا، والرینی و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که مصرف مزمن الکل باعث افزایش بیان ژن PARP-1 در قشر پیش پیشانی موش می شود (۱۹). همچنین اسکوبی و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر مصرف کوکائین را بر بیان ژن PARP-1 بررسی کردند. نتایج نشان داد که مصرف این ماده مخدر باعث افزایش سطوح PARP-1 در هسته آکومبانس مغز موش می شود (۲۰). موافق با سایر پژوهشگران، شین و همکاران (۲۰۱۶) افزایش بیان ژن PARP-1 را در کاردیومیوپاتی دیابتی مشاهده کردند (۱۷).

همواره پژوهشگران به دنبال روش هایی برای کاهش بیان بیش از حد ژن PARP-1 و عوارض ناشی از آن بوده اند (۱۷، ۲۰). یکی از روش های درمانی غیردارویی که در سال های اخیر به آن توجه شده است، انجام تمرین ورزشی است (۲۱). در حقیقت تمرین ورزشی به عنوان فعالیت جسمانی برنامه ریزی شده، ساختارمند و مداوم تعریف می شود (۲۲) که در جهت بهبود ظرفیت عملکردی و ارتقاء سلامت طراحی شده است (۲۳). مطالعات اخیر نشان دادند که تمرینات تناوبی با شدت بالا که شامل جلسات تکراری نسبتاً کوتاه و متناوب با شدت بالا همراه با دوره های فعالیت با شدت کم یا استراحت است (۲۴)، نسبت به تمرینات مداوم از یکنواختی کمتری برخوردار است و این عامل باعث شده است



شکل ۱. نمایش شماتیک اجرای مداخلات در این مطالعه

این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه حکیم سبزواری با کد IR.HSU.REC.1400.005 تصویب شد. اصول اخلاقی در مورد نحوه

ملاحظات اخلاقی

کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آزادانه آب و غذای استاندارد (پلت) و شرایط نگهداری مناسب مانند تنظیم دمای اتاق نگهداری حیوانات در محدوده 21 ± 2 درجه سانتی گراد با رطوبت ۶۰-۴۰ درصد و در نظر گرفتن چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری، رعایت شد. همچنین همه آزمایشات بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد.

تزریق متامفتامین

متامفتامین به مدت ۲۱ روز متوالی و روزانه ۵ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن که با محلول سالین فیزیولوژی (۰/۹ درصد کلرید سدیم) حل می شد به موش‌های صحرایی گروه‌های متامفتامین، متامفتامین-کنترل و متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا تزریق شد (۴،۶). همچنین در این مدت فقط محلول سالین فیزیولوژی به موش‌های صحرایی گروه‌های تزریق شد.

پروتکل تمرین ورزشی

بعد از پایان برنامه تزریق متامفتامین، به موش‌های صحرایی گروه متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا اجازه داده می شد تا به صورت تدریجی با استرس تمرین سازگار شوند. این مرحله شامل یک هفته تمرین بر روی نوارگردان جوندگان می باشد که با سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در هر جلسه انجام شد (۳۱). ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه آشناسازی، موش‌های صحرایی آزمون ورزشی فزاینده را که با سرعت ده متر در دقیقه شروع می شد و به ازای هر سه دقیقه، سه متر بر دقیقه بر سرعت آن افزوده می شد تا مرز خستگی انجام دادند (۳۲)، سپس میانگین سرعت بیشینه موش‌های صحرایی در گروه متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا که براساس آزمون ورزشی فزاینده برآورد شده بود برای طراحی برنامه تمرین استفاده گردید. تمرینات گروه تناوبی با شدت بالا به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته روی نوارگردان جوندگان با شیب صفر درجه انجام می شد. هر جلسه تمرین شامل ۶ دقیقه گرم کردن با سرعت ۸ متر در دقیقه، ۶ دقیقه سرد کردن با سرعت ۸ متر در دقیقه و برنامه اصلی با شدت ۸۵٪ سرعت بیشینه بود که اطلاعات دقیق آن در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا در این مطالعه

هفته، روش‌های تمرین	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
تناوب شدید								
تعداد تناوب	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴
زمان هر تناوب (دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
سرعت هر تناوب (متر بر دقیقه)	۲۲	۲۴	۲۶	۲۸	۳۰	۳۲	۳۴	۳۶
استراحت فعال								
تعداد تناوب	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴
زمان هر تناوب (دقیقه)	۲	۲	۳	۳	۴	۴	۴	۴
سرعت هر تناوب (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۱	۱۱	۱۲	۱۲	۱۳	۱۳

جدول ۲. توالی پرایمرها در این مطالعه

نام ژن	توالی پرایمر (۵' → ۳')
PARP-1	R: AGACGTGTGGCAGTAGTTCG F: GTCACAGGTCTGCGGATAG
GAPDH	R: GGCATGGACTGTGGTCATGA F: CAACTCCCTCAAGATTGTCAGCAA

استخراج بافت

موش‌های صحرایی دو گروه‌های متامفتامین و متامفتامین بعد از ۲۱ روز تزریق متامفتامین و همچنین موش‌های صحرایی دو گروه متامفتامین-کنترل و متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا بعد از ۲۴ ساعت از آخرین جلسه تمرینی از طریق گاز دی اکسید کربن بیهوش و سپس کشته شدند. پس از کشته شدن، بلافاصله کالبد شکافی انجام شد و بافت قلب به دقت برداشته و بطن چپ جداسازی شد. نمونه بافت بطن چپ قلب جهت انجام آزمایش‌های ژنتیکی در میکروتیوب منتقل و در نیتروژن مایع منجمد شد و در ۷۰- درجه سانتی گراد برای بررسی میزان بیان ژن PARP-1 نگهداری شد.

طراحی و سنتز پرایمر

توالی پرایمرهای ژن‌های PARP-1 و GAPDH مورد استفاده در این مطالعه توسط نرم افزار آنالاین Primer-Blast (NCBI) طراحی (جدول ۲) و سپس این پرایمرها توسط شرکت سیناکلون ایران سنتز شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA با استفاده از محلول تریزول (TRIzol) شرکت یکتا تجهیز آزما ایران طبق پروتکل شرکت سازنده برای همه نمونه‌ها انجام شد. بدین منظور، ۵۰ میلی گرم بافت بطن چپ قلب در محلول تریزول لیز شد. برای جدا سازی RNA از کلروفرم و ایزوپروپانول و برای شستشوی آن، از اتانول ۷۵ درصد استفاده گردید. کل نمونه‌ها با دستگاه پیکودراپ (Picodrop limited, Hinxton, United Kingdom) جهت بررسی کمیت و کیفیت RNA استخراج شده مورد بررسی قرار گرفتند. سنتز cDNA به روش رونویسی معکوس از RNA استخراج شده با استفاده از کیت سنتز cDNA شرکت یکتا تجهیز آزما ایران و براساس پروتکل سنتز cDNA موجود در کیت انجام شد.

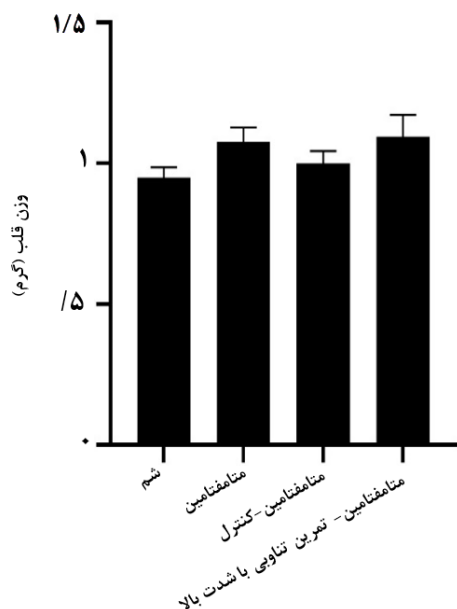
Real Time (RT)-PCR

برای اندازه‌گیری سطح بیان ژن PARP-1 از دستگاه Real Time-PCR (Rotor Gene Q, Qiagen, Germany) استفاده شد. در این مرحله از کیت Real Q Plus 2x Master Mix Green-high

با گروه‌های متامفتامین ($p=0/974$)، متامفتامین-کنترل ($p=0/993$) و شم ($p=0/90$) بدون تغییر بود (شکل ۵).

بحث

مطالعه حاضر به بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن PARP-1 قلبی در موش‌های صحرایی نر وابسته به متامفتامین پرداخت. بر طبق یافته‌های به‌دست آمده مصرف مزمن متامفتامین باعث القاء PARP-1 در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی شد و تمرین تناوبی با شدت بالا به‌عنوان یک روش غیر دارویی نتوانست میزان بیان این ژن را در مصرف کنندگان متامفتامین کاهش دهد. در این راستا مطالعه اسکوبی و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر مصرف کوکائین را بر بیان ژن PARP-1 موش‌های نر C57BL/6J بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که در اثر مصرف این ماده مخدر میزان بیان این ژن در هسته آکومبانس موش افزایش معنی‌داری داشته است (۲۰). والرینی و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌شان به بررسی ژن PARP-1 در قشر پیش‌پیشانی در موش‌های نر C57BL/6J وابسته به الکلی پرداختند. این پژوهشگران بیان کردند که الکلی باعث افزایش بیان ژن PARP-1 در این ناحیه از مغز موش می‌شود (۱۹) پیلای و همکاران (۲۰۰۵) میزان بیان ژن PARP-1 را در طی هایپرتروفی فیزیولوژی و پاتولوژی در جوندگان و انسان بررسی کردند. این پژوهشگران بیان کردند که میزان بیان این ژن در موش‌های سالم تمرین کرده و در موش‌ها و انسان‌های دچار نارسایی قلبی بالا است و رابطه مستقیمی بین هایپرتروفی پاتولوژی و فعالیت PARP-1 در موش‌های دچار نارسایی قلبی وجود دارد (۳۳).



شکل ۲. تغییرات وزن قلب موش‌های صحرایی.

عضله قلب به‌عنوان یک بافت اکسیداتیو و با فعالیت مداوم یکی از بافت‌های مستعد جهت بروز آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از ROS است (۳۴). تصور می‌شود مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژی مربوط به کاردیومیوپاتی ناشی از متامفتامین چند عاملی باشد که به شکل مستقیم و غیر مستقیم باعث آسیب میوکارد می‌شود (۳۵). متامفتامین

(Ampliqon, Denmark) cDNA.Rox™ ساخته شده و پرایمرهای سنتز شده استفاده گردید. برنامه دمایی سیستم شامل پروتکل دمایی به‌صورت واسرشتگی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ چرخه متوالی به‌صورت واسرشتگی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه و توسعه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه بود. منحنی تکثیر هر واکنش PCR با منحنی تکثیر ژن مرجع GAPDH مربوطه نرمالیزه شد. همچنین از فرمول $CT-2\Delta\Delta$ به‌منظور تعیین میزان بیان ژن‌های مطالعه حاضر استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از استخراج نتایج از آزمون شاپیرو-ویلک جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. زمانی که واریانس‌ها همگن بودند، برای بررسی تفاوت بین گروهی از آزمون آماری ANOVA و برای تعیین تفاوت بین جفت گروه‌ها از آزمون Sidak's multiple comparisons استفاده شد. در غیر این صورت از آزمون آماری Welch's ANOVA جهت بررسی تفاوت بین گروهی و برای تعیین تفاوت بین جفت گروه‌ها از آزمون Dunnett's T3 multiple comparisons استفاده گردید. همچنین تمام عملیات آماری با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۸ انجام شد و سطح معنی‌داری $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین وزن بدن در بین دو گروه‌شم و متامفتامین ($p=0/831$) و دو گروه متامفتامین-کنترل و متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا ($p > 0/999$) تفاوت معنی‌داری نداشت. بعد از ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا، میانگین وزن بدن در دو گروه متامفتامین-کنترل ($p=0/010$) و متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا ($p=0/016$) بیشتر از گروه متامفتامین بود (شکل ۲). نتایج آزمون ANOVA نشان داد که میانگین وزن قلب در بین گروه‌های‌شم، متامفتامین، متامفتامین-کنترل و متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا تفاوت معنی‌داری ندارد ($p=0/251$) (شکل ۳). نسبت وزن قلب به وزن بدن در بین دو گروه‌شم و متامفتامین ($p=0/113$) و دو گروه متامفتامین-کنترل و متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا ($p=0/832$) تفاوت معنی‌داری نداشت. بعد از ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا، نسبت وزن قلب به وزن بدن در گروه متامفتامین-کنترل کمتر از گروه متامفتامین بود ($p=0/027$) (شکل ۴).

آزمون Welch's ANOVA نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های‌شم، متامفتامین، متامفتامین-کنترل و متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا در بیان ژن PARP-1 وجود دارد ($p < 0/001$). همچنین آزمون Dunnett's T3 multiple comparisons نشان داد که در اثر ۲۱ روز تزریق متامفتامین، بیان ژن PARP-1 در گروه متامفتامین در مقایسه با گروه‌شم افزایش معنی‌داری داشته است ($p=0/025$). بعد از ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا، میزان بیان ژن PARP-1 در گروه متامفتامین-تمرین تناوبی با شدت بالا در مقایسه

AMPK جهت تلاش برای حفظ انرژی سلول و متعاقب آن باعث غیر فعال شدن مسیر mTORC1 می‌شود. همچنین افزایش سنتز PAR باعث کاهش فسفوریلاسیون ERK1/2 و از مسیر دیگر باعث غیر فعال شدن مسیر mTORC2 و کاهش فسفوریلاسیون AKT می‌شود (۴۱).

همان طور که ذکر شد تمرین تناوبی با شدت بالا قادر نبود میزان بیان ژن PARP-1 افزایش یافته در اثر مصرف مزمن متامفتامین را کاهش دهد. با این وجود، مکانیسم‌های تمرینات ورزشی به ویژه تمرینات تناوبی با شدت بالا در مقابله با PARP-1 در بیماران و افراد معتاد به مواد مخدر روشن نشده است و در این زمینه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. در ارتباط با عوامل احتمالی که ممکن است با PARP-1 افزایش یافته مقابله بکند، اژدری و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که این گونه تمرینات باعث افزایش بیان ژن‌های GPx و CAT در بافت قلب موش‌های صحرایی وابسته به کادمیوم می‌شود (۲۶). همچنین فتاحی بافقی و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا باعث افزایش معنی‌دار آنزیم آنتی اکسیدانی GPx و کاهش معنی‌دار آنزیم اکسیداتیو MDA در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود (۴۲). مشخص شده است که استرس اکسیداتیو با از بین رفتن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سمیت‌زدایی آن‌ها توسط عوامل آنتی اکسیدان بروز می‌کند (۳۴). در نتیجه این گونه تمرینات ممکن است از طریق افزایش دادن شاخص‌های آنتی اکسیدانی، فشار اکسایشی را کاهش دهند.

همچنین دلفان و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که این گونه تمرینات باعث افزایش بیان IGF-1 و IGF-1R در موش‌های دیابتی می‌شود (۲۹). شین و همکاران (۲۰۱۶) به نقل از پژوهشگران پیشین اذعان کردند که بیان بیش از حد IGF-1، آپوپتوزیس و نکروزیس کاردیومیوسیت‌های موش‌های تراخیخته را کاهش می‌دهد (۱۷). همچنین فسفوریلاسیون IGF-1R می‌تواند AKT را فعال کند که در اثر آن مجموعه‌ای از پاسخ‌های سلولی از جمله تکثیر و محافظت سلول از مرگ تحریک می‌شود (۴۳).

نتیجه گیری

با وجود افزایش بیان ژن PARP-1 قلبی در اثر مصرف متامفتامین، به نظر نمی‌رسد که تمرینات تناوبی با شدت بالا بتواند میزان بیان این ژن را در موش‌های صحرایی وابسته به متامفتامین کاهش دهد. با توجه به محدودیت پژوهش‌های انجام شده در این زمینه، نیاز است تا پژوهشگران برای روشن شدن نقش این گونه تمرینات بر بیان این ژن مطالعات بیشتری انجام دهند.

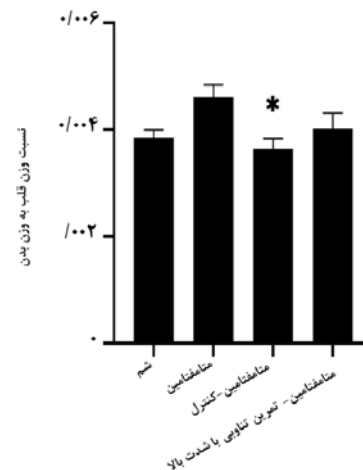
تشکر و قدردانی

پژوهشگران از دفتر تحقیقات و آموزش ستاد مبارزه با مواد مخدر ریاست جمهوری و دانشگاه حکیم سبزواری به دلیل حمایت مالی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان به دلیل در اختیار گذاشتن تجهیزات و دستگاه‌های مورد نیاز برای اجرای این مطالعه کمال تشکر را دارند.

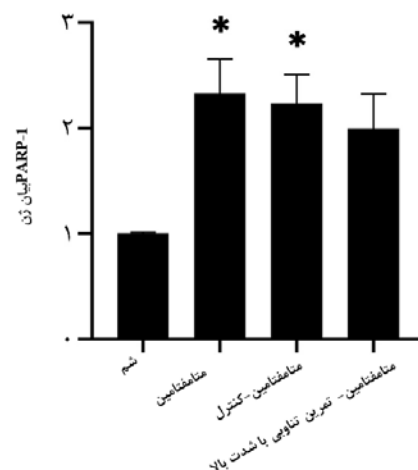
تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

از طریق افزایش کاتکولامین‌ها باعث افزایش ضربان قلب، فشار خون و انقباض پذیری میوکاردی، اسپاسم عروقی و احتمالاً باعث افزایش ROS، التهاب و کاهش اتساع عروقی به واسطه NO می‌شود (۳۶). در نتیجه یکی از مسیرهایی که متامفتامین ممکن است باعث آسیب میوکارد شود، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد است که باعث افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود (۳۵). تولید بیش از حد ROS منجر به اکسیداسیون پروتئین‌ها و لیپیدهای سلولی و آسیب DNA و باعث فعال شدن سیگنالینگ داخل سلولی و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود (۳۷).



شکل ۳. نسبت وزن قلب به وزن بدن موش‌های صحرایی. * تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه متامفتامین را نشان می‌دهد.



شکل ۴. سطح بیان ژن PARP-1 در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی. * تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شم را نشان می‌دهد.

PARP-1 در پاسخ به آسیب DNA در اثر تولید رادیکال‌های آزاد فعال می‌شود (۱۰) و افزایش فعالیت آن و سنتز PAR باعث آزاد شدن AIF از میتوکندری و متعاقب آن آپوپتوزیس (۱۵)، کاهش فعالیت eNOS و متعاقب آن بدملکردی اندوتلیال (۳۸)، افزایش ACAT-1 و متعاقب آن تجمع LDL اکسید شده، تخلیه NAD⁺ و ATP و متعاقب آن تنظیم منفی SIRT1 و نکروزیس (۳۹) و افزایش AP-1 و NF-κB و متعاقب آن التهاب (۴۰) می‌شود. افزایش فعالیت PARP-1 و متعاقب آن افزایش سنتز PAR، منجر به افزایش فسفوریلاسیون

References

- Courtney KE, Ray LA. Methamphetamine: an update on epidemiology, pharmacology, clinical phenomenology, and treatment literature. *Drug Alcohol Depend.* 2014;**143**:11-21. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2014.08.003 PMID: 25176528
- Paknahad S, Akhgari M, Ghadipasha M. An alarming rise in the prevalence of deaths with methamphetamine involved in Tehran, Iran 2011-2018. *Forensic Sci Med Pathol.* 2021;**17**(2):208-215. DOI: 10.1007/s12024-020-00339-9 PMID: 33237521
- Yu Q, Larson DF, Watson RR. Heart disease, methamphetamine and AIDS. *Life Sci.* 2003;**73**(2):129-140. DOI: 10.1016/s0024-3205(03)00260-1 PMID: 12738029
- Abdullah CS, Aishwarya R, Alam S, Morshed M, Remex NS, Nitu S, et al. Methamphetamine induces cardiomyopathy by Sigmar1 inhibition-dependent impairment of mitochondrial dynamics and function. *Commun Biol.* 2020;**3**(1):682. DOI: 10.1038/s42003-020-01408-z PMID: 33203971
- Akhgari M, Mobaraki H, Etemadi-Aleagha A. Histopathological study of cardiac lesions in methamphetamine poisoning-related deaths. *Daru.* 2017;**25**(1):5. DOI: 10.1186/s40199-017-0170-4 PMID: 28212679
- Sun X, Wang Y, Xia B, Li Z, Dai J, Qiu P, et al. Methamphetamine produces cardiac damage and apoptosis by decreasing melusin. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2019;**378**:114543. DOI: 10.1016/j.taap.2019.03.015 PMID: 30904475
- Loizzi V, Ranieri G, Laforgia M, Gadaleta CD, Gargano G, Kardhashi A, et al. PARP inhibitors and epithelial ovarian cancer: Molecular mechanisms, clinical development and future prospective. *Oncol Lett.* 2020;**20**(4):90. DOI: 10.3892/ol.2020.11951 PMID: 32831909
- Virag L, Szabo C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev.* 2002;**54**(3):375-429. DOI: 10.1124/pr.54.3.375 PMID: 12223530
- Kirkland JB. Poly ADP-ribose polymerase-1 and health. *Exp Biol Med (Maywood).* 2010;**235**(5):561-568. DOI: 10.1258/ebm.2010.009280 PMID: 20463295
- Peralta-Leal A, Rodriguez-Vargas JM, Aguilar-Quesada R, Rodriguez MI, Linares JL, de Almodovar MR, et al. PARP inhibitors: new partners in the therapy of cancer and inflammatory diseases. *Free Radic Biol Med.* 2009;**47**(1):13-26. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.04.008 PMID: 19362586
- Ame JC, Spellenhauer C, de Murcia G. The PARP superfamily. *Bioessays.* 2004;**26**(8):882-893. DOI: 10.1002/bies.20085 PMID: 15273990
- Jagtap P, Szabo C. Poly(ADP-ribose) polymerase and the therapeutic effects of its inhibitors. *Nat Rev Drug Discov.* 2005;**4**(5):421-440. DOI: 10.1038/nrd1718 PMID: 15864271
- Pillai JB, Gupta M, Rajamohan SB, Lang R, Raman J, Gupta MP. Poly(ADP-ribose) polymerase-1-deficient mice are protected from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;**291**(4):H1545-1553. DOI: 10.1152/ajpheart.01124.2005 PMID: 16632544
- Luo X, Kraus WL. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. *Genes Dev.* 2012;**26**(5):417-432. DOI: 10.1101/gad.183509.111 PMID: 22391446
- Chiarugi A, Moskowitz MA. Cell biology. PARP-1--a perpetrator of apoptotic cell death? *Science.* 2002;**297**(5579):200-201. DOI: 10.1126/science.1074592 PMID: 12114611
- Oh KS, Lee S, Yi KY, Seo HW, Koo HN, Lee BH. A novel and orally active poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor, KR-33889 [2-[methoxycarbonyl(4-methoxyphenyl) methylsulfanyl]-1H-benzimidazole-4-carboxylic acid amide], attenuates injury in in vitro model of cell death and in vivo model of cardiac ischemia. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009;**328**(1):10-18. DOI: 10.1124/jpet.108.143719 PMID: 18836068
- Qin WD, Liu GL, Wang J, Wang H, Zhang JN, Zhang F, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 inhibition protects cardiomyocytes from inflammation and apoptosis in diabetic cardiomyopathy. *Oncotarget.* 2016;**7**(24):35618-35631. DOI: 10.18632/oncotarget.8343 PMID: 27027354
- Korim KM, Abdelhamid AZ, Younes HF. Caffeic acid protects tissue antioxidants and DNA content in methamphetamine induced tissue toxicity in Sprague Dawley rats. *Toxicol Mech Methods.* 2013;**23**(2):134-143. DOI: 10.3109/15376516.2012.730561 PMID: 22992185
- Vallerini GP, Cheng YH, Chase KA, Sharma RP, Kusumo H, Khakhkhar S, et al. Modulation of Poly ADP Ribose Polymerase (PARP) Levels and Activity by Alcohol Binge-Like Drinking in Male Mice. *Neuroscience.* 2020;**448**:1-13. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2020.09.010 PMID: 32920042
- Scobie KN, Damez-Werno D, Sun H, Shao N, Gancarz A, Panganiban CH, et al. Essential role of poly(ADP-ribose)ylation in cocaine action. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;**111**(5):2005-2010. DOI: 10.1073/pnas.1319703111 PMID: 24449909
- Sbolli M, Fiuzat M, Cani D, O'Connor CM. Depression and heart failure: the lonely comorbidity. *Eur J Heart Fail.* 2020;**22**(11):2007-2017. DOI: 10.1002/ehf.1865 PMID: 32468714
- Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep.* 1985;**100**(2):126-131. PMID: 3920711
- Reed JL, Terada T, Cotie LM, Tulloch HE, Leenen FH, Mistura M, et al. The effects of high-intensity interval training, Nordic walking and moderate-to-vigorous intensity continuous training on functional capacity, depression and quality of life in patients with coronary artery disease enrolled in cardiac rehabilitation: A randomized controlled trial (CRX study). *Prog Cardiovasc Dis.* 2022;**70**:73-83. DOI: 10.1016/j.pcad.2021.07.002 PMID: 34245777
- Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia.* 2017;**60**(1):7-23. DOI: 10.1007/s00125-016-4106-1 PMID: 27681241
- Groussard C, Maillard F, Vazeille E, Barnich N, Sirvent P, Otero YF, et al. Tissue-Specific Oxidative Stress Modulation by Exercise: A Comparison between MICT and HIIT in an Obese Rat Model. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;**2019**:1965364. DOI: 10.1155/2019/1965364 PMID: 31396298
- Azhdari A, Hosseini SA, Farsi S. Antioxidant effect of high intensity interval training on cadmium-induced cardiotoxicity in rats. *Gene Cell Tissue.* 2019;**6**(3):e94671. DOI: 10.5812/gct.94671
- Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Mol Med Rep.* 2015;**12**(2):2374-2382. DOI: 10.3892/mmr.2015.3669 PMID: 25936391
- Holloway TM, Bloemberg D, da Silva ML, Simpson JA, Quadrilatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. *PLoS One.* 2015;**10**(3):e0121138. DOI: 10.1371/journal.pone.0121138 PMID: 25803693
- Delfan M, Delphan M, Kordi MR, Ravasi AA, Safa M, Gorgani-Firuzjaee S, et al. High intensity interval training improves diabetic cardiomyopathy via miR-1 dependent suppression of cardiomyocyte apoptosis in diabetic rats. *J Diabetes Metab Disord.* 2020;**19**(1):145-152. DOI: 10.1007/s40200-019-00485-0 PMID: 32550164
- Paneka WJ, Procyshyn RM, Lecomte T, MacEwan GW, Flynn SW, Honer WG, et al. Methamphetamine use: a comprehensive review of molecular, preclinical and clinical findings. *Drug Alcohol Depend.* 2013;**129**(3):167-179. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2012.11.016 PMID: 23273775

31. Banaei P, Nazem F, Nazari A, Arjomand A. Preconditioning Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) and Berberine Supplementation on the Gene Expression of Angiogenesis Regulators and Caspase-3 Protein in the Rats with Myocardial Ischemia-Reperfusion (IR) Injury. *Biomed Res Int*. 2020;**2020**:4104965. DOI: 10.1155/2020/4104965 PMID: 32964031
32. Fashi M, Agha-Alinejad H, Asilian-Mahabadi H, Rezaei B, Pakrad B, Rezaei S. The effects of aerobic exercise on NF-KB and TNF-A in lung tissue of male rat. *Novel Biomed*. 2015;**3**(3):131-134. DOI: 10.22037/nbm.v3i3.8001
33. Pillai JB, Russell HM, Raman J, Jeevanandam V, Gupta MP. Increased expression of poly(ADP-ribose) polymerase-1 contributes to caspase-independent myocyte cell death during heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;**288**(2):H486-496. DOI: 10.1152/ajpheart.00437.2004 PMID: 15374823
34. Ascensao A, Ferreira R, Magalhaes J. Exercise-induced cardioprotection--biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria. *Int J Cardiol*. 2007;**117**(1):16-30. DOI: 10.1016/j.ijcard.2006.04.076 PMID: 16860886
35. Jafari Giv M. Exposure to Amphetamines Leads to Development of Amphetamine Type Stimulants Associated Cardiomyopathy (ATSAC). *Cardiovasc Toxicol*. 2017;**17**(1):13-24. DOI: 10.1007/s12012-016-9385-8 PMID: 27663745
36. Kevil CG, Goeters NE, Woolard MD, Bhuiyan MS, Dominic P, Kolluru GK, et al. Methamphetamine Use and Cardiovascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;**39**(9):1739-1746. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312461 PMID: 31433698
37. Takimoto E, Kass DA. Role of oxidative stress in cardiac hypertrophy and remodeling. *Hypertension*. 2007;**49**(2):241-248. DOI: 10.1161/01.HYP.0000254415.31362.a7 PMID: 17190878
38. Xu S, Bai P, Little PJ, Liu P. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) in atherosclerosis: from molecular mechanisms to therapeutic implications. *Med Res Rev*. 2014;**34**(3):644-675. DOI: 10.1002/med.21300 PMID: 24002940
39. Henning RJ, Bourgeois M, Harbison RD. Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) and PARP Inhibitors: Mechanisms of Action and Role in Cardiovascular Disorders. *Cardiovasc Toxicol*. 2018;**18**(6):493-506. DOI: 10.1007/s12012-018-9462-2 PMID: 29968072
40. Ke Y, Wang C, Zhang J, Zhong X, Wang R, Zeng X, et al. The Role of PARPs in Inflammation-and Metabolic-Related Diseases: Molecular Mechanisms and Beyond. *Cells*. 2019;**8**(9). DOI: 10.3390/cells8091047 PMID: 31500199
41. Ethier C, Tardif M, Arul L, Poirier GG. PARP-1 modulation of mTOR signaling in response to a DNA alkylating agent. *PLoS One*. 2012;**7**(10):e47978. DOI: 10.1371/journal.pone.0047978 PMID: 23110147
42. Fattahi-Bafghi A, Matin- Homaei H, Azarbayjani MA. The effects of high-intensity interval training and curcumin supplement on concentrations of antioxidant enzyme and oxidative stress in heart tissue of diabetic rats. *Iran J Diabet Obesit*. 2016;**8**(4):196-202.
43. Adams TE, Epa VC, Garrett TP, Ward CW. Structure and function of the type 1 insulin-like growth factor receptor. *Cell Mol Life Sci*. 2000;**57**(7):1050-1093. DOI: 10.1007/PL00000744 PMID: 10961344