

Protective Effect of Exercise on Liver Oxidative Stress, Inflammation and Histopathological Changes after Morphine Withdrawal in Rats

Ebrahim Abbasi¹,
 Iraj Salehi²,
 Ebrahim Zarin Kalam³,
 Kamal Ranjbar⁴,
 Fatemeh Mirzaei⁵,
 Alireza Komaki²,
 Sara Soleimani Asl²

¹ Associate Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

² Professor, Neurophysiology Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

³ Assistant Professor, Department of Sports Physiology, Islamic Azad University, Hamadan Branch, Hamadan, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Sports Physiology, Islamic Azad University, Bandar Abbas Branch, Bandar Abbas, Iran

⁵ Assistant Professor, Neurophysiology Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

(Received February 28 2021 ; Accepted February 9, 2022)

Abstract

Background and purpose: The harmful effects of morphine on the liver after withdrawal syndrome are unclear. In this experiment, we investigated the effects of exercise on oxidative stress, liver inflammation, liver enzymes, and liver histology after morphine withdrawal in rats.

Materials and methods: In this experimental study, male Wistar rats (n=30) were randomly divided into five groups: control, withdrawal syndrome (addicted), withdrawal syndrome+endurance training, withdrawal syndrome+resistance training, withdrawal syndrome+concurrent training. The experimental groups received morphine for 28 days, and after withdrawal, training interventions were done for 10 weeks. At the end of the study, the rats were sacrificed and liver was removed. Antioxidant activity was measured and histopathological evaluation of liver was done. Also, the TNF- α levels were determined.

Results: Compared with control rats, the levels of total antioxidant capacity (TAC), and the activities of glutathione and superoxide dismutase (SOD) significantly decreased in morphine withdrawal group ($P<0.05$), while malondialdehyde (MDA) concentration, total oxidant capacity (TOS), and TNF α significantly increased in this group ($P<0.05$). However, training interventions reduced the concentration of MDA, TOS activity, and TNF- α and increased TAC, SOD, and glutathione. Histological analysis indicated major changes in addict group, while training alleviated these changes.

Conclusion: Morphine is used as analgesic in patients, but this study showed that it has harmful effects on liver function and histology.

Keywords: morphine, liver, oxidative stress, exercise

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (207): 26-37 (Persian).

* Corresponding Author: Fatemeh Mirzaei - Neurophysiology Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. (E-mail: 7abbasi@gmail.com)

اثر محافظتی ورزش بر استرس اکسیداتیو، التهاب و تغییرات هیستوپاتولوژی کبد پس از سندرم ترک در رت های معتاد به مرفین

ابراهیم عباسی¹
ایرج صالحی²
ابراهیم زرین کلام³
کمال رنجبر⁴
فاطمه میرزایی⁵
علیرضا کمکی²
سارا سلیمانی اصل²

چکیده

سابقه و هدف: اثرات مضر مرفین بر کبد پس از سندرم ترک نامشخص است. از این رو در این آزمایش، تاثیر ورزش بر استرس اکسیداتیو، التهاب کبد، آنزیم های کبدی و بافت شناسی کبد پس از سندرم ترک در رت های معتاد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، 30 سر رت نر نژاد ویستار بطور تصادفی به 5 گروه شامل کنترل، سندرم ترک، سندرم ترک همراه با ورزش استقامتی، ورزش مقاومتی و ورزش همزمان تقسیم شدند. گروه معتاد، مرفین را به مدت 28 روز دریافت کردند و بعد از ترک آن انواع مختلف ورزش برای 10 هفته انجام شد. در پایان مطالعه، رت ها کشته شدند و کبد جدا شد و فعالیت آن تی اکسیدانی اندازه گیری شد. هیستوپاتولوژی کبد نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین سطح فاکتور نکروز توموری آلفا ($TNF\alpha$) اندازه گیری شد.

یافته ها: در گروه سندرم ترک مرفین میزان ظرفیت آن تی اکسیدانی تام (TAC)، گلو تاتیون، و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در مقایسه با گروه کنترل معنی داری کاهش یافت ($P<0/05$)، در حالی که غلظت مالون دی آلدئید (MDA)، ظرفیت اکسیداسیون تام (TOS) و $TNF-\alpha$ در رت های معتاد در مقایسه با کنترل افزایش چشمگیری داشت ($P<0/05$). با این حال، استفاده از انواع مختلف تمرین باعث کاهش غلظت MDA، TOS و $TNF-\alpha$ و همچنین افزایش TAC، SOD و گلو تاتیون شد. تجزیه و تحلیل های بافت شناسی نشان دهنده آسیب کبدی شدید در گروه سندرم ترک بود، در حالی که ورزش سبب بهبود این تغییرات شد.

استنتاج: اگرچه از مرفین به عنوان ضد درد در بیماران استفاده می شود، اما این مطالعه نشان داد که مصرف مرفین اثر مضری بر عملکرد و بافت شناسی کبد دارد.

واژه های کلیدی: مرفین، کبد، استرس اکسیداتیو، ورزش

مقدمه

در حال حاضر اعتیاد به مواد مخدر گسترش جهانی داشته و زیان های جدی و خطرناکی برای فرد و خانواده

او به همراه دارد (1). از طرف دیگر می تواند سبب آسیب جسمی مانند افزایش ریسک ابتلا به بیماری های عفونی

E-mail: fmirzaei90@yahoo.com

مؤلف مسئول: فاطمه میرزایی - همدان: دانشگاه علوم پزشکی همدان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب

1. دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
 2. استاد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
 3. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران
 4. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرعباس، بندرعباس، ایران
 5. استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
- تاریخ دریافت: 1399/12/10 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1399/12/25 تاریخ تصویب: 1400/11/20

و واگیر دار مانند هپاتیت، ایدز، سل و ضعف سیستم ایمنی را بدنبال داشته باشد (2). برخی از افراد در کشورهای آسیایی اعتقاد دارند که تریاک می تواند در درمان بسیاری از بیماری ها مفید باشد که همین امر، باعث بالا بودن میزان اعتیاد در این نواحی شده است. مشخص شده است که تریاک حاوی 20-5 درصد آب، حدود 20 درصد کربوهیدرات، اسید لاکتیک، اسید مکونیک و اسید سولفوریک می باشد. آلکالوئیدهای عمده تریاک شامل مرفین (غلظت 10 درصد)، نوسکاپین (غلظت 6 درصد)، کدئین (غلظت 5 درصد) و تبائین (غلظت 2 درصد) و پاپاورین (غلظت 1 درصد) می باشد. اکثر آلکالوئیدهای تریاک دارای کاربرد بالینی می باشد (3). به علت دشوار بودن ستر آزمایشگاهی مرفین، تریاک منبع اولیه و اصلی در تهیه آن است و آثار فارماکولوژیک تریاک ناشی از محتوای مرفینی آن می باشد. مرفین یکی از داروهای ضد درد می باشد که برای تسکین دردهای شدید استفاده می شود. این ترکیب به طور گسترده در تمام نقاط دنیا استفاده می شود. مرفین در کبد متابولیزه شده و از طریق کلیه دفع می گردد. لذا کبد بافت مهمی در متابولیزه کردن مرفین می باشد (4). مطالعات نشان داده اند که مرفین باعث آسیب در بافت های کبد، ریه، دستگاه گوارش و کلیه می شود. افزایش آنزیم های کبدی از جمله آسپارات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و الکالین فسفاتاز و همچنین افزایش اوره و کراتینین در حیوانات آزمایشگاهی پس از دریافت مرفین گزارش شده است (5). از طرف دیگر افزایش استرس اکسیداتیو در بافت های مختلف از تاثیر نامطلوب فیزیولوژیکی مرفین می باشد. بررسی های به عمل آمده نشان می دهد که تجویز مرفین سبب افزایش تولید رادیکال های آزاد و کاهش سطح گلو تاتیون می گردد (6). مکانیسم دقیق وابستگی به مرفین و سندرم قطع مصرف هنوز به درستی مشخص نشده است، اما ممکن است در هنگام قطع مصرف مرفین (Withdrawal)، توازن در عملکرد برخی از مسیرهای عصبی برهم بخورد و همچنین ممکن است آثار بافتی باقی مانده باشد که

نیازمند درمان باشد. نشان داده شده است که اعتیاد به مرفین یا تریاک سبب افزایش استرس اکسیداتیو می گردد (7). مرفین می تواند گیرنده های اپیوئیدی را فعال کند و سبب تولید رادیکال های آزاد، از جمله گونه های فعال اکسیژن یا نیتروژن شود (8). از طرف دیگر مرفین قادر است باعث کاهش فعالیت آنتی اکسیدان در بدن شود. گزارش شده است که سطح گلو تامات و میزان مالون دی آلدنید (MDA) به تدریج در مغز موش های تحت درمان با مرفین افزایش می یابد. همچنین میزان گلو تاتیون (GSH) و فعالیت گلو تاتیون پراکسیداز (GSH-Px) در مغز موش های دریافت کننده مرفین کاهش می یابد (9). از طرف دیگر مرفین می تواند با فعال کردن مسیر التهابی TLR4 (Toll-like receptor 4) و در نهایت افزایش سطح فاکتور نکروز توموری آلفا ($TNF\alpha$) در بافت سبب التهاب گردد (10).

نشان داده شده است که ورزش نقش مهمی در فارماکو کیتیک داروها ایفا می کند. ورزش سبب افزایش گردش خون در بافت ها شده و دفع مواد از راه کلیه را افزایش می دهد. ورزش همچنین باعث کاهش ترکیبات استرس اکسیداتیو در بافت های مختلف از جمله کبد می گردد (11). گزارش شده است که ورزش موجب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و افزایش توان دفاعی می گردد (12). از طرف دیگر ورزش می تواند میزان برخی از واسطه های شیمیایی عصبی که به علت اعتیاد به مواد کاهش یافته است را جبران کند. بالا رفتن واسطه های شیمیایی از جمله اندورفین ها در طی ورزش منجر به تغییر در خلق و خوی و میزان حساسیت فرد به درد می گردد. افزایش اندورفین ها در ورزش باعث ایجاد نشاط و کاهش علائم وابستگی به مرفین می گردد. نقش درمانی ورزش در بیماران مختلف از جمله پرفشاری خون، افسردگی، دیابت و اعتیاد گزارش شده است. صالحی و همکاران اثر تمرینات ورزشی مختلف را در رت های معتاد به مرفین بررسی کردند. نتایج آن ها نشان داد که ورزش سبب بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی در روده می شود (13). با این حال اثر ورزش بر کبد حیوانات معتاد به مرفین، که

محل متابولیسم مرفین شناخته می‌شود، مشخص نیست (14). لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر وابستگی طولانی مدت به مرفین بر استرس اکسیداتیو کبد و همچنین مطالعه تاثیر سه روش تمرینی مختلف بر میزان این تغییرات در رت‌های معتاد به مرفین در زمان سندرم ترک بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی بود که در دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد. در این تحقیق رت‌های نر نژاد ویستار (30 سر) با وزن تقریبی 200 تا 225 گرم از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه همدان تهیه و سپس در یک اتاق مخصوص در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شرایط 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی نگهداری شدند (15). رت‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و به‌طور تصادفی در 5 گروه (هر گروه 6 سر) تقسیم شده‌اند: 1- گروه کنترل سالم، 2- گروه معتاد: رت‌های معتاد به مرفین، 3- گروه معتاد + تمرینات استقامتی: رت‌های معتادی که به مدت 10 هفته تمرینات دویدن روی تردمیل انجام شد، 4- گروه معتاد + تمرینات مقاومتی: این گروه به مدت 10 هفته بالا رفتن از نردبان با وزنه‌های متصل به دم را تمرین کردند، 5- گروه معتاد + تمرینات همزمان (کانکارت): این گروه به مدت 10 هفته تمرینات همزمان هوازی و قدرتی را در هر جلسه تمرین کردند. تمام روش‌های این تحقیق تحت نظارت کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان (کد اخلاق: IR.UMSHA.REC.1395.240) انجام شد.

نحوه ایجاد اعتیاد حیوانات

از روش خوراکی برای ایجاد وابستگی به مرفین استفاده شد. مرفین با غلظت‌های متوالی 0/2، 0/1mg/ml، 0/3 به مدت 48 ساعت، سپس 0/4mg/ml در طی روزهای بعدی، در آب آشامیدنی حیوان ریخته شد. به علت طعم تلخ مرفین، سولفات ساکاروز با غلظت 3 درصد به آب آشامیدنی رت‌ها اضافه گردید. ظروف حاوی آب و مرفین

توسط ورق‌های نازک آلومینیومی پوشانده شد تا از تجزیه مرفین توسط نور جلوگیری شود (16). با این روش، رت‌ها پس از شروع تجویز مرفین، معتاد می‌گردند. برای اطمینان از ایجاد وابستگی به مرفین در حیوانات، به یک تا دو سر از رت معتاد در هر گروه به‌صورت زیر جلدی داروی نالوکسان (3mg/kg، داخل صفاقی) تزریق شد. علائم ترک شامل اسهال، حرکت سر، لرزش بدن، بهم خوردن دندان‌ها، پایین افتادن پلک‌ها و لرزش پنجه می‌باشد. پس از تزریق نالوکسان رت‌ها به عنوان حیوانات معتاد در نظر گرفته شدند و سپس به‌صورت تصادفی به گروه‌های مختلف تقسیم شدند (17).

تمرینات ورزشی

تمرین استقامتی: رت‌ها به مدت 10 هفته و هر هفته 5 روز تمرین داشتند. کل دوره تمرین به 2 مرحله اضافه‌بار، حفظ و تثبیت شدت کار تقسیم شد. در هفته اول حیوانات هر روز به مدت 10 دقیقه با سرعت 17 متر در دقیقه روی نوارگردان دویند. به تدریج در طول هفته دوم تا هفته ششم، زمان فعالیت به مدت 10 دقیقه افزایش یافت تا در نهایت به یک ساعت در هر جلسه رسید. در هفته هفتم تا دهم (مرحله تثبیت مدت) رت‌ها به مدت یک ساعت با سرعت 30 متر بر دقیقه که تقریباً معادل $90 \text{ VO}_{2\text{max}}$ درصد می‌باشد روی نوارگردان ورزش کردند در این مرحله شیب تردمیل 10 درجه بود (13).

تمرینات قدرتی: ابتدا حیوانات سه روز به مدت 15 دقیقه در دستگاه نردبان 36 پله‌ای بدون وزنه برای آشنا شدن با دستگاه و کاهش استرس قرار تمرین کردند. سپس پروتکل منظم ورزش که 10 هفته، 5 روز در هفته با 3 ست 4 تایی با 3 دقیقه استراحت بین ست‌ها و 15 ثانیه بین تکرارها انجام شد. در سه هفته اول حیوانات موردنظر با وزنه ۲۰، ۴۰، ۶۰ درصد وزن بدن و در سه هفته دوم با وزنه ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰ درصد وزن بدن و در نهایت در چهار هفته آخر با وزنه ۱۴۰، ۱۶۰، ۱۸۰ و 180 درصد وزن بدن تمرین کردند (13).

تمرینات همزمان: تمرینات همزمان نیز به مدت 10 هفته انجام شد که موازی با تمرینات هوازی و قدرتی در هر جلسه نصف زمان تمرینات قدرتی و نصف دیگر تمرینات هوازی انجام شد. تمرینات همزمان 5 روز در هفته و به طور متناوب یک بار تمرینات قدرتی و روز بعد ابتدا تمرینات هوازی انجام شد (13).

در پایان مطالعه رت‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین بیهوش شدند. بافت کبد رت‌ها (6 رت در هر گروه) جدا شده و پس از شستشو ابتدا در نیتروژن مایع فریز شد و سپس در 80- درجه سانتی‌گراد جهت اندازه‌گیری فاکتورهای استرس اکسیداتیو نگه‌داری شدند.

شاخص‌های آنتی اکسیدانی و التهابی

این شاخص‌ها شامل مالون دی آلدئید (MDA)، وضعیت اکسیدانی تام (TOS)، آنتی اکسیدانی تام (TAC)، گلو تاتیون، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و میزان فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF α) به شرح زیر اندازه‌گیری شد (18).

میزان پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) به روش تیوباریتوریک اسید اندازه‌گیری شد. بدین صورت که محلول رویی بافت هموزن شده کبد برای سنجش استفاده شد. به 50 میکرولیتر مخلوط هموزن حاصله 4 میلی‌لیتر آب مقطر و 1 میلی‌لیتر معرف تیوباریتوریک اسید اضافه و مخلوط واکنش به مدت 45 دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. بعد از خنک شدن به مخلوط فوق، 5 میلی‌لیتر n-بوتانول اضافه شده و به خوبی تکان داده شد. سپس با سانتریفوژ، فاز رنگی بوتانولی جداسازی شده و با فلوریمتری در طول موج تحریکی 515 نانومتر و طول موج نشری 553 نانومتر شدت فلورسانس اندازه‌گیری گردید. از تترا اتوکسی پروپان به عنوان استاندارد استفاده شد (19).

وضعیت اکسیدانی تام در کبد بوسیله اکسید شدن آهن فروس به فریک در نمونه‌های دارای اسیدپت متوسط و اندازه‌گیری فریک به وسیله گزیلنول اورنج مشخص

می‌گردد. در این روش 50 میکرولیتر نمونه را با 95 میکرولیتر معرف ورتکس شد و سپس آن را به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. جذب نمونه پس از سانتریفوژ در طول موج 560 نانومتر قرائت شد. در این روش از اسیدسولفوریک 25 میلی‌مولار، گزیلین اورنج 150 میکرومولار و سوریتول 100 میلی‌مولار برای تهیه معرف استفاده شد. از H₂O₂ به عنوان استاندارد استفاده گردید (20).

میزان خاصیت آنتی اکسیدانی تام در کبد اندازه‌گیری به روش دستی FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) صورت گرفت. در این روش ترکیبات آنتی اکسیدان در pH پایین سبب احیای کمپلکس فریک به به فرم فروس می‌شود. محصول بدست آمده در طول موج 593 نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان TNF α به روش الایزا با استفاده از کیت شرکت BioLegend (Cat: 438204) آمریکا اندازه‌گیری شد (21).

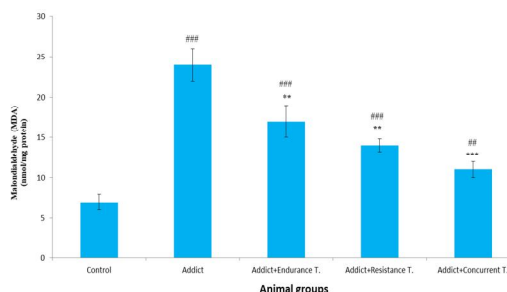
اندازه‌گیری گلو تاتیون، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) میزان گلو تاتیون (Cat.No.ZB-SOD-96A) و SOD (Cat.No.ZB-SOD-96A) با استفاده از کیت شرکت زلیو آلمان (ZellBio, GmbH, Germany) اندازه‌گیری شد.

مطالعات بافت شناسی کبد

جهت انجام مطالعه تغییرات بافتی، کبد حیوانات موجود در هر گروه بلافاصله جدا شده (4 سر از هر گروه) و سپس در فرمالین 10 درصد به مدت حداقل 24 ساعت فیکس شدند. در مرحله بعد مقاطع پارافین تهیه و در یک میکروتوم چرخشی به برش‌هایی با ضخامت 5 میکرومتر تهیه شد و به وسیله همتاکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شده. تغییرات پاتولوژیک بر اساس تغییرات ساختمانی و تغییرات سلولی توسط میکروسکوپ نوری بررسی گردید (22).

تجزیه و تحلیل داده ها

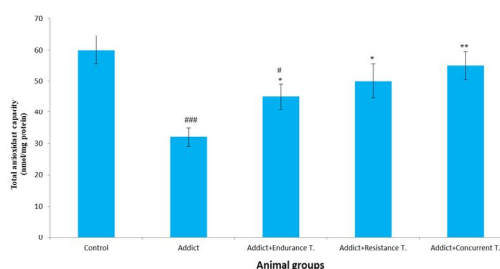
آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS 20 انجام و نتایج بر حسب Mean $\pm$ SEM گزارش شد. برای



نمودار شماره 1: میزان MDA در گروه‌های مختلف درمانی

داده‌ها به صورت Mean±SD نشان داده شده‌اند.

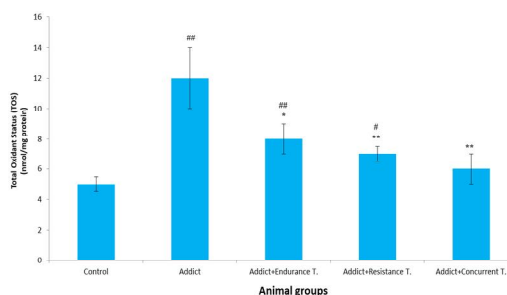
معنی داری به صورت $P<0/05$ و $P<0/01$ و $P<0/001$ در مقایسه با گروه معتاد درمان نشده و $P<0/001$ در مقایسه با گروه کنترل سالم نمایش داده شده است. T: Training



نمودار شماره 2: میزان آنتی اکسیدان تام در گروه‌های مختلف درمانی

داده‌ها به صورت Mean±SD نشان داده شده‌اند.

معنی داری به صورت $P<0/05$ و $P<0/01$ و $P<0/001$ در مقایسه با گروه معتاد درمان نشده و $P<0/001$ در مقایسه با گروه کنترل سالم نمایش داده شده است. T: Training



نمودار شماره 3: میزان اکسیدان تام در گروه‌های مختلف درمانی

داده‌ها به صورت Mean±SD نشان داده شده‌اند.

معنی داری به صورت $P<0/05$ و $P<0/01$ و $P<0/001$ در مقایسه با گروه معتاد درمان نشده و $P<0/001$ در مقایسه با گروه کنترل سالم نمایش داده شده است. T: Training

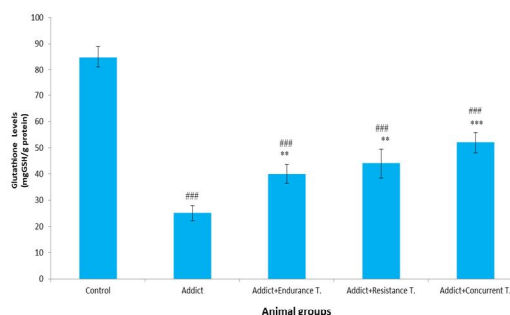
تجزیه و تحلیل داده‌ها و مقایسه بین گروه‌های مختلف از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و در صورت معنی دار شدن از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد.

یافته‌ها

سطح MDA در گروه سندرم ترک به میزان قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت ($P<0/001$). در حالی که تمرینات ورزشی میزان MDA را در سندرم ترک همراه در مقایسه با گروه سندرم ترک درمان نشده به مقدار قابل ملاحظه‌ای کاهش داد ($P<0/001$). گروه سندرم ترک با تمرینات استقامتی ($P<0/01$)، مقاومتی ($P<0/01$) و ترکیبی ($P<0/001$) سبب کاهش قابل ملاحظه سطح MDA در مقایسه با گروه سندرم ترک درمان نشده گردید (نمودار شماره 1).

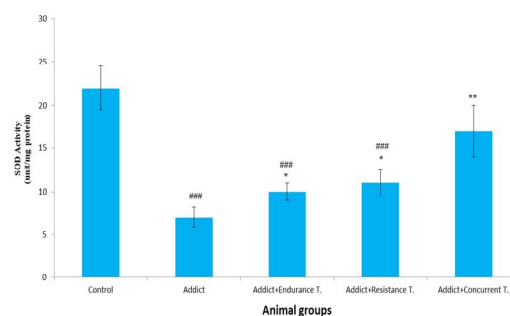
کاهش قابل ملاحظه‌ای در میزان TAC در گروه سندرم ترک در مقایسه با گروه کنترل دیده شد ($P<0/001$). در حالی که در گروه سندرم ترک همراه با ورزش استقامتی ($P<0/05$)، مقاومتی ($P<0/05$) و ترکیبی ($P<0/01$) افزایش معنی داری در میزان TAC در مقایسه با گروه سندرم ترک درمان نشده دیده شد. میزان تغییر در گروه ترکیبی بیش تر از بقیه گروه‌ها بود (نمودار شماره 2).

نتایج آماری ANOVA نشان‌دهنده اختلاف معنی داری میزان TOS در گروه‌های مختلف تحت درمان می‌باشد ($P<0/001$). میزان اکسیدان تام در گروه سندرم ترک در مقایسه با گروه کنترل افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت ($P<0/001$). در حالی که در گروه سندرم ترک همراه با ورزش استقامتی ($P<0/05$)، مقاومتی ($P<0/01$) و ترکیبی ($P<0/01$) کاهش معنی داری در میزان TOS در مقایسه با گروه سندرم ترک درمان نشده دیده شد (نمودار شماره 3).



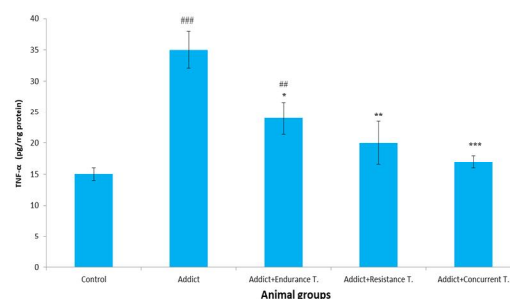
نمودار شماره 4: میزان گلو تاتیون در گروه های مختلف درمانی داده ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده اند.

معنی داری به صورت $P < 0/05$ و $P < 0/01$ و $P < 0/001$ در مقایسه با گروه معتاد درمان نشده و $P < 0/001$ در مقایسه با گروه کنترل سالم نمایش داده شده است. T: Training



نمودار شماره 5: میزان SOD در گروه های مختلف درمانی داده ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده اند.

معنی داری به صورت $P < 0/05$ و $P < 0/01$ و $P < 0/001$ در مقایسه با گروه معتاد درمان نشده و $P < 0/001$ در مقایسه با گروه کنترل سالم نمایش داده شده است. T: Training



نمودار شماره 6: میزان TNF-α در گروه های مختلف درمانی داده ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده اند.

معنی داری به صورت $P < 0/05$ و $P < 0/01$ و $P < 0/001$ در مقایسه با گروه معتاد درمان نشده و $P < 0/001$ در مقایسه با گروه کنترل سالم نمایش داده شده است. T: Training

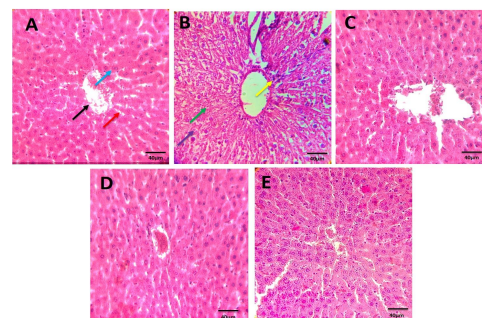
میزان گلو تاتیون در گروه معتاد در مقایسه با گروه کنترل افزایش قابل ملاحظه ای را نشان داد ($P < 0/01$). در گروه معتاد همراه با ورزش در مقایسه با گروه معتاد درمان نشده افزایش معنی داری ($P < 0/01$) در میزان گلو تاتیون دیده شد. در گروه سندرم ترک همراه با ورزش استقامتی ($P < 0/01$)، مقاومتی ($P < 0/01$) و ترکیبی ($P < 0/01$) افزایش معنی داری در میزان گلو تاتیون در مقایسه با گروه سندرم ترک درمان نشده دیده شد (نمودار شماره 4).

میزان فعالیت آنزیم SOD در گروه معتاد در مقایسه با گروه کنترل کاهش قابل ملاحظه ای را نشان داد ($P < 0/01$). در گروه معتاد همراه با ورزش در مقایسه با گروه معتاد درمان نشده افزایش معنی داری ($P < 0/01$) در میزان فعالیت آنزیم SOD دیده شد. در گروه سندرم ترک همراه با ورزش استقامتی ($P < 0/01$)، مقاومتی ($P < 0/01$) و ترکیبی ($P < 0/001$) افزایش معنی داری در میزان فعالیت آنزیم SOD در مقایسه با گروه سندرم ترک درمان نشده دیده شد (نمودار شماره 5).

میزان TNF-α نیز در در گروه معتاد در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت ($P < 0/001$). در گروه معتاد همراه با ورزش در مقایسه با گروه معتاد درمان نشده کاهش معنی داری در میزان TNF-α دیده شد. در گروه سندرم ترک همراه با ورزش استقامتی ($P < 0/01$)، مقاومتی ($P < 0/01$) و ترکیبی ($P < 0/001$) کاهش معنی داری در میزان TNF-α در مقایسه با گروه سندرم ترک درمان نشده دیده شد (نمودار شماره 6).

در بررسی های بافت شناسی ارتشاح سلول های لنفاوی در گروه های کنترل و معتاد + ورزش دیده نشد، اما در گروه معتاد درمان نشده به میزان خفیف دیده شد. در گروه معتاد + ورزش استقامتی، مقاومتی و همزمان بهبودی حاصل شد. بی نظمی سینوزوئیدها و تغییر سایز ورید مرکزی به طور واضح در گروه معتاد دیده شد. اما در گروه معتاد + ورزش استقامتی، مقاومتی و همزمان بهبودی حاصل شد. از دیگر تغییرات بافتی در گروه

معتاد احتقان وریدی بود که به میزان خفیف مشاهده شد. اما در گروه معتاد + ورزش استقامتی، مقاومتی و همزمان بهبودی حاصل شد. افزایش تعداد سلول‌های کوپفر در گروه تریاک مشاهده شد، اما در گروه معتاد + ورزش استقامتی، مقاومتی و همزمان بهبودی حاصل شد. تغییر آبیکی در هر سه گروه معتاد به میزان خفیف دیده شد. اما در گروه معتاد + ورزش استقامتی، مقاومتی و همزمان بهبودی حاصل شد. اما در گروه معتاد + ورزش استقامتی، مقاومتی و همزمان بهبودی حاصل شد. در هیچ کدام از گروه‌ها فیروز، در هم ریختگی لبولی، استاز صفراوی، چند هسته‌ای شدن، دیسپلازی مشاهده نشد (تصویر شماره 1).



تصویر شماره 1: تغییرات بافت‌شناسی در گروه‌های مختلف درمانی. رنگ‌آمیزی با H&E (بزرگمایی $400\times$ و اسکیل بار $40\mu\text{m}$). تجویز مرفین سبب آسیب بافت کبد در مقایسه با گروه کنترل گردید. در حالی که تمرین‌های ورزشی سبب بهبود اختلالات بافت‌شناسی شد. A: گروه کنترل سالم، B: گروه معتاد: رت‌های معتاد به مرفین، C: گروه معتاد+تمرینات استقامتی، D: گروه معتاد + تمرینات مقاومتی، E: گروه معتاد + تمرینات همزمان. فلش سیاه: ورید مرکزی، فلش قرمز: فضای سینوزوئیدی، فلش آبی: سلول کبدی، فلش بنفش: سلول foam، فلش سبز: سلول نکروتیک، فلش زرد: سلول‌های لنفاوی

بحث

در این مطالعه میزان گلو‌تاتیون و TAC در کبد رت‌های معتاد به‌طور معنی‌داری کاهش داشت، در حالی که غلظت MDA، TOS و $\text{TNF-}\alpha$ در رت‌های معتاد در مقایسه با کنترل افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت. تمرینات

ورزشی باعث کاهش غلظت MDA، TOS و $\text{TNF-}\alpha$ و همچنین افزایش TAC و گلو‌تاتیون شد. افزایش سطح MDA کبدی، که یک مارکر مهم پراکسیداسیون چربی و نشان‌دهنده استرس اکسیداتیو است، در رت‌های معتاد دیده شد. نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌های کبدی تولید گونه‌های فعال اکسیژن است و آسیب‌های بعدی با تجمع MDA ایجاد شده که یک محصول پراکسیداسیون می‌باشد. تجمع رادیکال‌های آزاد به‌طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق اختلال فعالیت آنزیم‌ها، آسیب رساندن به DNA و ایجاد پراکسیداسیون چربی سبب آسیب بافت کبد می‌شود. افزایش سطح MDA کبدی، که به عنوان مارکر پراکسیداسیون چربی شناخته می‌شود، نشان‌دهنده تاثیر مضر اعتیاد به مرفین کبد رت‌های معتاد می‌باشد. نتیجه MDA نقش کلیدی در پاتوژنز بسیاری از اختلالات مانند دیابت، پارکینسون، چاقی، سکتة مغزی و آلزایمر و بیماری‌های دستگاه گوارش دارد. مرفین با افزایش پراکسیداسیون چربی و کاهش سیستم آنتی‌اکسیدانی سبب آسیب کبد می‌شود در حالی که تمرینات ورزشی سبب کاهش این مارکر شد. راه‌های موثر و کم هزینه برای جلوگیری از آسیب ناشی از مواد مخدر، می‌تواند نقش مهمی در درمان و جلوگیری از عود ایفا کند. استفاده از داروهای مختلف در سندروم ترک معمولاً اثربخشی کمی دارند و سبب وابستگی فرد به مواد جدید می‌گردد. لذا به نظر می‌رسد ورزش یکی از روش‌های موثر و کم هزینه درمان اعتیاد باشد (23).

نتایج این مطالعه نشان داد که مرفین سبب افزایش میزان رادیکال‌های آزاد می‌شود و لذا سطح آنتی‌اکسیدان‌های بدن کاهش می‌یابد. Abdel-Zaher و همکاران نشان دادند که مرفین سبب کاهش میزان گلو‌تاتیون (GSH) و کاهش فعالیت گلو‌تاتیون پراکسیداز (GSH-Px) در مغز موش می‌شود (9). بیان شده است که رادیکال آزاد نقش مهمی در بیماری‌های مختلف دارند. در واقع افزایش رادیکال‌های آزاد و از سوی دیگر کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن که به عنوان استرس

اکسیداتیو شناخته می‌شود، سبب آسیب بافت‌های مختلف از جمله کبد می‌شود. بنابراین استرس اکسیداتیو در اثر عدم تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد و مکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی در بدن بوجود می‌آید. همان‌طور که ذکر شد در این مطالعه میزان استرس اکسیداتیو در رت‌های معتاد افزایش داشت که این تغییر می‌تواند سبب تغییرات کبد گردد. تولید گونه‌های فعال اکسیژن نقش مهمی در بیماری‌های دستگاه گوارش که در ارتباط با فلور روده می‌باشد، ایفا می‌کند این بیماری‌ها شامل بیماری التهابی روده، و سرطان روده بزرگ است. افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن با اختلال در باکتری‌های روده همراه است. نشان داده شده است که در طی التهاب، میکروبیوتای روده می‌تواند مستقیماً گونه‌های فعال اکسیژن را تولید کند، که می‌تواند باعث آسیب DNA در سلول‌های آلوده شود و از طرف دیگر سبب افزایش التهاب در بدن، افزایش ریسک بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت و کبد چرب می‌شود. لذا تغییر در دستگاه گوارش از اهمیت خاصی برخوردار است (24). از آن‌جا که مواد مخدر خوراکی در ارتباط مستقیم با کبد می‌باشد، در نتیجه می‌تواند باعث آسیب این بافت گردد. اعتیاد به مرفین می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد را تحریک کنند و یا سبب کاهش عملکرد گلوتاتیون گردد (25). گزارش شده است که مرفین می‌تواند سبب القاء استرس اکسیداتیو و همچنین افزایش آپوپتوز در ماکروفاژها گردد (26). با این حال افزایش ظرفیت آنتی اکسیدان موجب محافظت سلول‌ها در مقابل آثار سمی حاصل از مرفین می‌شود (27). Zhang و همکاران نشان داده‌اند مرفین از طریق تاثیر اکسیداتیو باعث سمیت کبدی می‌شود (28).

در این تحقیق میزان $TNF-\alpha$ در کبد رت‌های معتاد به‌طور معنی‌داری افزایش داشت، در حالی ورزش سبب کاهش این مارکر التهابی گردید. Santos و همکاران نشان دادند که ورزش سبب کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو در روده می‌گردد. آن‌ها نشان دادند که 5 بار

ورزش در هفته به مدت 8 هفته سبب کاهش فاکتورهای التهابی مانند $TNF-\alpha$ ، $IL-1\beta$ ، $IL-6$ و مارکرهای استرس اکسیداتیو می‌گردد (29). در این تحقیق از سه نوع ورزش استقامتی، مقاومتی و همزمان استفاده شد. که تاثیر ورزش همزمان بیش‌تر بود. همچنین Meng و همکاران نشان دادند که تجویز مرفین در موش باعث تغییر در ترکیب باکتری روده شده و یکپارچگی دستگاه گوارش بهم ریخته و باعث التهاب در روده می‌شود (30). بنابراین مرفین می‌تواند تاثیر مضری بر روی دستگاه گوارش داشته باشد در حالی که ورزش می‌تواند سبب بهبود این تغییرات می‌گردد. نتایج بافت شناسی نشان‌دهنده تغییرات عمده در گروه معتاد بود، در حالی که ورزش به‌طور قابل توجهی این تغییرات را نرمال کرد که این تغییرات در راستای استرس اکسیداتیو بود. در این مطالعه مصرف مرفین سبب آسیب بافت کبد گردید. در حالی که ورزش اختلالات بافت‌شناسی را تا حدود زیادی بهبود بخشید. کبد بزرگ‌ترین ارگان بدن می‌بوده که در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک اساسی نظیر هومئوستاز قندها، تولید پروتئین‌های پلاسما، تولید چربی و لیپو پروتئین، تولید و ترشح اسیدهای صفراوی، سم زدایی و همچنین در فعال‌سازی و دفع مرفین نقش دارد (31). بنابراین در اعتیاد به مرفین، این بافت می‌تواند مستقیماً تحت تاثیر قرار بگیرد. استفاده طولانی مدت مرفین می‌تواند با برخی از پیامدهای آسیب‌شناختی متعددی از جمله سمیت کبد، اختلال عملکرد کبد، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در ارتباط باشد (32).

مفیدپور و همکاران با بررسی تاثیر مرفین بر ساختار بافت شناسی کبد رت گزارش دادند که نکرور، بهم ریختگی ساختار سلولی، تجمع قطرات چربی، بروز استئاتوز و همچنین التهاب در اطراف عروق و فضای پورت را گزارش دادند (33). در مطالعه Lee و همکاران مرفین باعث تخریب سلول‌های کبدی رت و افزایش آنزیم‌های کبدی شده است (34). همچنین سلحشور و همکاران نیز گزارش دادند که مصرف مرفین باعث افزایش آنزیم‌های کبدی و آسیب بافت کبد می‌شود (35). همچنین

راستای استرس اکسیداتیو بود. لذا از ورزش می توان به عنوان یک راهکار در درمان سندرم بعد از ترک مرفین معرفی کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان به جهت تصویب و حمایت مالی از تحقیق و تقدیر و تشکر می گردد (شماره گرنت 9505193019).

مطالعه نصیریایی مقدم نیز نشان داد که تجویز مرفین سبب هیپرپلازی سلول های کوپفر در جنین موش به دنبال تجویز مورفین به مادر می شود (36). نتیجه این مطالعه نشان داد که ورزش های متفاوت به ویژه ورزش ترکیبی میزان گلوتاتیون و TAC در کبد رت های معتاد به طور معنی داری کاهش و غلظت MDA، TOS و TNF- α را افزایش داد. ورزش به طور قابل توجهی تغییرات بافت کبد را نرمال کرد که این تغییرات در

References

1. Roayaei P, Aminorroaya A, Vasheghani-Farahani A, Oraii A, Sadeghian S, Poorhosseini H, et al. Opium and cardiovascular health: A devil or an angel? *Indian Heart J* 2020; 72(6): 482-490.
2. Najafipour H, Beik A. The Impact of Opium Consumption on Blood Glucose, Serum Lipids and Blood Pressure, and Related Mechanisms. *Front Physiol* 2016; 7: 436.
3. Schiff PL. Opium and its alkaloids. *American Journal of Pharmaceutical Education* 2002; 66(2): 188-196.
4. mati K, Pourhanifeh MH, Dehdashtian E, Fatemi I, Mehrzadi S, J Reiter R. Melatonin and morphine: potential beneficial effects of co-use. *Fundam Clin Pharmacol* 2021; 35(1): 25-39.
5. Parodi G, Bellandi B, Xanthopoulou I, Capranzano P, Capodanno D, Valenti R, et al. Morphine is associated with a delayed activity of oral antiplatelet agents in patients with ST-elevation acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Circ Cardiovasc Interv* 2015; 8(1): e001593.
6. McClung CA, Nestler EJ, Zachariou V. Regulation of gene expression by chronic morphine and morphine withdrawal in the locus ceruleus and ventral tegmental area. *The Journal of Neuroscience* 2005; 25(25): 6005-6015.
7. Listos J, Łupina M, Talarek S, Mazur A, Orzelska-Górka J, Kotlińska J. The Mechanisms Involved in Morphine Addiction: An Overview. *Int J Mol Sci* 2019; 20(17): 4302.
8. Zeng XS, Geng WS, Wang ZQ, Jing JJ. Morphine Addiction and Oxidative Stress: The Potential Effects of Thioredoxin-1. *Front Pharmacol* 2020; 11: 82.
9. Abdel-Zaher AO, Mostafa MG, Farghaly HS, Hamdy MM, Abdel-Hady RH. Role of oxidative stress and inducible nitric oxide synthase in morphine-induced tolerance and dependence in mice. Effect of alpha-lipoic acid. *Behav Brain Res* 2013; 247: 17-26.
10. Eidson LN, Inoue K, Young LJ, Tansey MG, Murphy AZ. Toll-like Receptor 4 Mediates Morphine-Induced Neuroinflammation and Tolerance via Soluble Tumor Necrosis Factor Signaling. *Neuropsychopharmacology* 2017; 42(3): 661-670.
11. Man AWC, Li H, Xia N. Impact of Lifestyles (Diet and Exercise) on Vascular Health: Oxidative Stress and Endothelial Function. *Oxid Med Cell Longev* 2020; 2020: 1496462.

12. Li F, Liu W, Huo F, He W, Yang F, Wei J, et al. Effect of Self-Controlled Exercise on Antioxidant Activity of Red Blood Cells and Functional Recovery of Limbs in Patients with Breast Cancer after Rehabilitation. *Iran J Public Health* 2021; 50(2): 306-314.
13. Salehi I, Zarrinkalam E, Mirzaei F, Abasi Oshaghi E, Ranjbar K, Soleimani asl S. Effects of Resistance, Endurance, and Concurrent Exercise on Oxidative Stress Markers and the Histological Changes of Intestine After Morphine Withdrawal in Rats. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry* 2018; 6(2): 44-49 (Persian).
14. Miladi Gorji H, Rashidy-Pour A, Fath Elahi Y, Semnanian S. Effects of voluntary exercise on severity of naloxone precipitated morphine withdrawal signs in rats. *Koomesh* 2010; 12(1): 86-93 (Persian).
15. Mohammadi A, Bazrafshani MR, Oshaghi EA. Effect of garlic extract on some serum biochemical parameters and expression of npc111, abca1, abcg5 and abcg8 genes in the intestine of hypercholesterolemic mice. *Indian J Biochem Biophys* 2013; 50(6): 500-504.
16. Shahryari J, Poormorteza M, Noori-Sorkhani A, Divsalar K, Abbasi-Oshaghi E. The Effect of Concomitant Ethanol and Opium Consumption on Lipid Profiles and Atherosclerosis in Golden Syrian Hamster's Aorta. *Addict Health* 2013; 5(3-4): 83-89 (Persian).
17. Zarrinkalam E, Heidarianpour A, Salehi I, Ranjbar K, Komaki A. Effects of endurance, resistance, and concurrent exercise on learning and memory after morphine withdrawal in rats. *Life Sci* 2016; 157: 19-24.
18. Abbasi-Oshaghi E, Khodadadi I, Tavilani H, Mirzaei F, Goodarzi MT. Dill-normalized liver lipid accumulation, oxidative stress, and low-density lipoprotein receptor levels in high cholesterol fed hamsters. *ARYA Atheroscler* 2018; 14(5): 218-224 (Persian).
19. Ravan AP, Bahmani M, Ghasemi Basir HR, Salehi I, Oshaghi EA. Hepatoprotective effects of *Vaccinium arctostaphylos* against CCl₄-induced acute liver injury in rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2017; 28(5): 463-471.
20. Kassaei SM, Taghi Goodarzi M, Abbasi Oshaghi E. Antioxidant, antiglycation and anti-hyperlipidemic effects of *Trigonella foenum* and *Cinnamon* in type 2 diabetic rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2018; 13(1): e38414 (Persian).
21. Abbasi-Oshaghi E, Khodadadi I, Mirzaei F, Ahmadi M, Tayebinia H, Goodarzi MT. *Anethum graveolens* L. Alleviates Sperm Damage by Limiting Oxidative Stress and Insulin Resistance in Diabetic Rats. *The Open Medicinal Chemistry Journal* 2020; 14(1): 35-44.
22. Arsang M, Khodadadi I, Tyebinia H, Abbasi-Oshaghi E. The Protective Effects of Virgin Coconut Oil on High-Fat Diet Induced Rat Liver. *J Babol Univ Medical Sci* 2020; 22(1): 245-252 (Persian).
23. McLellan AT. Have we evaluated addiction treatment correctly? Implications from a chronic care perspective. *Addiction* 2002; 97(3): 249-252.
24. Tian T, Wang Z, Zhang J. Pathomechanisms of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Antioxidant Therapies. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017: 4535194.
25. Zaidi SK, Ansari SA, Tabrez S, Naseer MI, Shahwan MJ, Banu N, et al. Antioxidant potential of *Solanum nigrum* aqueous leaves extract in modulating restraint stress-induced changes in rat's liver. *J Pharm Bioallied Sci* 2019; 11(1): 60-68.

26. Bhat RS, Bhaskaran M, Mongia A, Hitosugi N, Singhal PC. Morphine-induced macrophage apoptosis: oxidative stress and strategies for modulation. *J Leukoc Biol* 2004; 75(6): 1131-1138.
27. Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of ethnopharmacology* 2000; 71(1): 23-43.
28. Zhang YT, Zheng QS, Pan J, Pan J, Zheng RL. Oxidative damage of biomolecules in mouse liver induced by morphine and protected by antioxidants. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004; 95(2): 53-58.
29. de Oliveira Santos R, da Silva Cardoso G, da Costa Lima L, de Sousa Cavalcante ML, Silva MS, Cavalcante AKM, et al. L-Glutamine and Physical Exercise Prevent Intestinal Inflammation and Oxidative Stress Without Improving Gastric Dysmotility in Rats with Ulcerative Colitis. *Inflammation* 2021; 44(2): 617-632.
30. Kang M, Mischel RA, Bhav S, Komla E, Cho A, Huang C, et al. The effect of gut microbiome on tolerance to morphine mediated antinociception in mice. *Sci Rep* 2017; 7: 42658.
31. Lisman T, Ariëns RA. Alterations in fibrin structure in patients with liver diseases. *Semin Thromb Hemost* 2016; 42(4): 389-396.
32. Skrabalova J, Drastichova Z, Novotny J. Morphine as a potential oxidative stress-causing agent. *Mini Rev Org Chem* 2013; 10(4): 367-372.
33. Mofidpour H, Alavi S, Tabatabaei Ys, Jafarpour M. The histopathological changes of mice liver due to morphine administration. *J Gorgan Univ Med Sci* 2005; 7(2)(16): 11-14 (Persian).
34. Lee YJ, Zhao RJ, Kim YW, Kang SJ, Lee EK, Kim NJ, et al. Acupuncture inhibits liver injury induced by morphine plus acetaminophen through antioxidant system. *European Journal of Integrative Medicine* 2016; 8(3): 204-212.
35. Salahshoor MR, Roshankhah S, Hosseini P, Jalili C. Genistein improves liver damage in male mice exposed to morphine. *Chin Med J* 2018; 131(13): 1598-1604.
36. Nasiraei-Moghadam S, Sahraei H, Bahadoran H, Sadooghi M, Salimi SH, Kaka GR, et al. Effects of maternal oral morphine consumption on neural tube development in Wistar rats. *Brain Res Dev Brain Res* 2005; 159(1): 12-17.