ارزیابی سطوح پروتئین P53 و Nrf2 در بافت کلیه پس از ۸ هفته تمرین استقامتی در موش‌های دیابتی همراه با سندروم ترک مرفین

بهزاد آزادبخت [۱](Ph.D Student)، عباس صارمی [۲*](Ph.D)، مجتبی خانسوز [۱](Ph.D)

۱- گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۲- گروه فیزیولوژی و آسیب‌شناسی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۶۳۶۲۲۶۶۸ a-saremi@araku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۷

چکیده

هدف: پروتئین P53 یکی از فاکتورهای تنظیم‌کننده آپوپتوز و Nrf2 تنظیم‌کننده اصلی پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. هدف از این مطالعه، ارزیابی سطوح پروتئین P53 و Nrf2 در بافت کلیه پس از ۸ هفته تمرین استقامتی در موش‌های دیابتی همراه با سندروم ترک مرفین بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نژاد ویستار استفاده شد که به صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. بعد از القاء دیابت و ایجاد وابستگی به مرفین با روش خوراکی، گروه‌های تمرین به مدت ۸ هفته پروتکل تمرین استقامتی را اجرا نمودند. گروه‌ها شامل: دیابت (D)، دیابت مرفین (D.M)، دیابت+تمرین استقامتی (D.ET)، دیابت مرفین+تمرین استقامتی (D.M.ET) بودند. در آخرین روز مطالعه، همه رت‌ها کشته شدند و کلیه آن‌ها جدا شد. سطوح پروتئین شاخص‌های این مطالعه توسط کیت‌های الایزا اندازه‌گیری شدند و از آزمون آنوای یک‌راهه و تست تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $P\leq$۰/۰۵ در تجزیه تحلیل داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که سطح پروتئین P53 در گروه تمرین D.ET (P=۰/۰۰۰) در مقایسه با گروه D و گروه تمرین D.M.ET (P=۰/۰۰۲) در مقایسه با گروه D.M، کاهش معنادار دارد. هم‌چنین مشاهده شد که سطح پروتئین Nrf2 در گروه‌های تمرینی D.ET (P=۰/۰۲۰) و D.M.ET (P=۰/۰۰۹) در مقایسه با گروه D افزایش معنادار داشته است.

نتیجه‌گیری: تمرینات استقامتی با افزایش Nrf2 احتمالاً سیستم آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرده و استرس‌اکسیداتیو را کاهش می‌دهد و با کاهش دادن P53 باعث کاهش آپوپتوز بافت کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی و دیابتی همراه با سندروم ترک مرفین می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، P53، Nrf2، کلیه، مرفین

مقدمه

دیابت یک اختلال متابولیکی پیچیده است که با هیپرگلیسمی (Hyperglycemia) همراه است. هیپرگلیسمی از طرق متفاوتی سبب آسیب به بافت‌های مختلف می‌شود [۱]. و از طریق مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی و با تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Oxygen Free Radicals) باعث القای استرس اکسیداتیو (Oxidative Stress) می‌شود و به دنبال آن مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی یا آپوپتوز (apoptosis) ایجاد می‌شود [۲]. استرس‌اکسیداتیو به دلیل تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) و کاهش تولید آنتی‌اکسیدان به دلیل اختلال در فعال‌سازی Nrf2 (فاکتور هسته‌ای اریتروئید دو مرتبط با فاکتور دو: Nuclear Factor Erythroid 2 - Related Factor 2)، تنظیم‌کننده اصلی آنتی‌اکسیدان درون‌زا به وجود می‌آید. Nrf2 بیان ژن‌های دفاع سلولی متعدد را تنظیم می‌کند و از آسیب‌های ناشی از استرس‌اکسیداتیو در دیابت محافظت می‌کند [۳]. و در همه بافت‌های بدن بیان می‌شود، اما بیش‌تر بیان آن در قلب، مغز، کلیه، ماهیچه، شش و کبد است [۴]. بنابراین سطوح پایین Nrf2 در ایجاد استرس‌اکسیداتیو در بیماران دیابتی نقش دارد [۵]. علاوه بر این، قرار گرفتن در معرض استرس سلولی می‌تواند سرکوبگر تومور p53، یک فاکتور رونویسی خاص را تحریک کند تا باعث توقف رشد یا آپوپتوز شود [۶]. از طرفی برخی معتقدند که تریاک در برخی از اختلالات به ویژه دیابت اثر درمانی مثبت دارد. بر همین

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-09-14]

اساس، مردم عادی تریاک را توصیه می‌کنند و همین امر دلیلی برای مصرف آن است [۷]. مرفین به عنوان مهم‌ترین آلکالوئید (Alkaloid) تریاک در نظر گرفته می‌شود [۸]. علاوه بر این، نقش مرفین به عنوان یکی از عوامل تاثیرگذار بر سطح گلوکز خون نیز مطرح است با این حال گزارش‌های متناقضی دال بر نقش مرفین در تغییرات گلوکز خون وجود دارد [۹]. با این حال مرفین با افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد یا کاهش فعالیت اجزای مختلف سیستم‌های آنتی‌اکسیدان و یا ترکیبی از هر دو طریق می‌تواند در سلول‌های هدف، سبب ایجاد استرس‌اکسیداتیو شود [۱۰]. مطالعات نشان می‌دهد که مرفین از طریق تجمع P53، فاز القایی مسیر آپوپتوز را فعال می‌کند [۱۱]. ریموند (۲۰۲۲) و همکاران در مطالعه‌ای بی‌نظمی مسیر Nrf2 و اختلالات میتوکندری را پس از قرار گرفتن در معرض مرفین در سلول‌های اندوتلیال مغز انسان نشان دادند [۱۲]. از سوی دیگر محققان معتقدند که ورزش علاوه بر اثرات مفید بر تغییرات سیستمی دیابت نوع دوم به لحاظ پیشگیری و به تاخیر انداختن دیابت و بهبود متابولیسم گلوکز، همچنین از طریق کاهش استرس‌اکسیداتیو و آپوپتوز، نقش حفاظتی را در برابر عوارض دیابت ایفا می‌کند [۱۳]. نتایج مطالعه عباسی و همکاران (۱۴۰۱) نیز نشان داد که تمرینات مختلف ورزشی باعث کاهش شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو، التهابی و افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در کبد گروه سندروم ترک مرفین گردید و ورزش سبب بهبود تغییرات بافتی در این گروه شد [۱۴]. بنابراین با وجود باورهای غلط در جامعه و توصیه به مصرف مواد مخدر جهت کنترل بیماری دیابت و عوارض مرتبط با آن و از طرفی نقش مهم استرس‌اکسیداتیو در ایجاد عوارض دیابت و مرفین در بافت‌های مختلف بدن، و با توجه به نقش موثر ورزش در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس‌اکسیداتیو، در این مطالعه اثر تمرین ورزشی در افزایش و فعال کردن فاکتور تنظیمی آنتی‌اکسیدانی Nrf2 در کاهش آسیب و جلوگیری از پیشرفت عوارض مرتبط با دیابت و مرفین به عنوان یک استراتژی درمانی مورد بحث می‌باشد. با این حال اثرات تمرین ورزشی بر بافت کلیه دیابتی در سندروم ترک مرفین نامشخص است. لذا در این مطالعه اثرات ۸ هفته تمرین استقامتی بر میزان پروتئین آپوپتوزی P53 و فاکتور تنظیمی آنتی‌اکسیدانی Nrf2 در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر دیابتی و دیابتی همراه با سندروم ترک مرفین مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که بر اساس جست‌وجوهای به عمل آمده هیچ مطالعه انسانی و حیوانی در این خصوص در دسترس نبود و این مطالعه برای اولین بار صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ تا ۱۰ هفته و میانگین وزن ۳۰±۲۳۰ گرم در این مطالعه تجربی استفاده گردید. پس از دو هفته نگهداری در شرایط جدید، بر اساس وزن به صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی شامل: ۱- دیابت ۲- دیابت مرفین ۳- دیابت + تمرین استقامتی ۴- دیابت مرفین + تمرین استقامتی تقسیم شدند. تمامی آزمایشات این مطالعه از اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته اخلاق حیوانات دانشکده علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد (شماره مرجع: IR.IAU.B.REC.1401.030) پیروی کردند. نمونه‌های این مطالعه در شرایط استاندارد، با چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و میانگین درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سلسیوس و با رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد قرار داشتند. برای دیابتی کردن موش‌ها پس از ۱۲ ساعت ناشتا بودن با تزریق درون صفاقی محلول نیکوتین‌آمید (Nicotinamide) محلول شده در نرمال سالین (Normal Saline) با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن را بعد از ۱۵ دقیقه از محلول استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) محلول در بافر سیترات (Citrate Buffer) ۰/۱ مولار با دوز ۶۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده گردید [۱۵]. ۷۲ ساعت پس از تزریق جهت اطمینان از دیابتی شدن، نمونه‌هایی که میزان قندخون آن‌ها بیش‌تر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر باشد به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند [۱۵]. از روش خوراکی جهت ایجاد وابستگی به مرفین استفاده گردید. مرفین با غلظت‌های متوالی ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هر کدام برای ۴۸ ساعت، سپس ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای بقیه روزها تا روز ۲۱ به آب اشامیدنی حیوانات اضافه شد [۱۶]. ضمناً به واسطه طعم تلخ مرفین در این مطالعه با توجه به دیابتی بودن موش‌ها از شیرین‌کننده مصنوعی مناسب با غلظت ۳ درصد استفاده گردید. جهت اطمینان از وابستگی موش‌ها به مرفین در پایان روز ۲۱ با تزریق داخل صفاقی نالوکسان (شرکت سیگما آمریکا) به نمونه‌ها به میزان ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، علائم ترک اعتیاد از جمله: پریدن، بالا رفتن، خاراندن، دندان‌قروچه، قرمزی دور چشم، اسهال، لرزش، افتادگی پلک، نعوظ و روی دو پا ایستادن برای مدت ۳۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۷]. ۴۸ ساعت بعد از القاء سندروم ترک مرفین، به مدت یک هفته آشناسازی با تردمیل انجام شد. تمرین استقامتی بر اساس اصل اضافه‌بار هفته‌ای سه جلسه و به مدت ۸ هفته در ۳ روز غیرمتوالی اجرا گردید (جدول ۱) که شامل دویدن روی نوارگردان به مدت

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-09-14]

۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲ متر در دقیقه با شیب صفر درجه بود. در ادامه تمرین، هر هفته ۵ دقیقه به مدت تمرین اضافه گردید تا به ۵۰ دقیقه رسید. همچنین سرعت تردمیل در هر هفته ۱ متر در دقیقه اضافه شد تا در نهایت به ۱۸ متر در دقیقه افزایش یافت در طول دوره تمرین، گرم کردن و سرد کردن به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۷ متر در دقیقه در ابتدا و انتهای تمرین استقامتی صورت گرفت [۱۸].

جدول ۱. دویدن روی تردمیل به مدت ۸ هفته، ،هفته‌ای ۳ جلسه در ۳ روز غیرمتوالی با شیب صفر درجه

هفته	هفته‌اول	هفته‌دوم	هفته‌سوم	هفته‌چهارم	هفته‌پنجم	هفته‌ششم	هفته‌هفتم	هفته‌هشتم
مدت (دقیقه)	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۰
سرعت(متر بر دقیقه)	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۸
آشناسازی	به مدت ۱ هفته							
گرم کردن و سرد کردن	۳ دقیقه با سرعت ۷ متر در دقیقه در ابتدا و انتهای تمرین استقامتی							

تمامی نمونه‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با ترکیبی از ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم کتامین (Ketamine) و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم زایلازین (Xylazine) بی‌هوش، کشته و تشریح و بافت‌برداری انجام گرفت. سطوح پروتئین شاخص‌های این پژوهش توسط کیت‌های الایزا (Elisa) مخصوص موش صحرایی مطابق دستورالعمل‌های شرکت تولیدکننده اندازه‌گیری گردید (P53: کیت الایزا شرکت RayBiotech، ساخت آمریکا، شماره کاتالوگ ELR-P53، حساسیت ۰/۳۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر– Nrf2: کیت الایزا شرکت Novus biologicals محصول آمریکا، شماره کاتالوگ NBP3-08161، حساسیت ۹/۳۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر). نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات مورد استفاده قرار گرفت. برای اطمینان از نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرویلک و در مقایسه میانگین گروه‌های مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس آنوای یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

نتایج

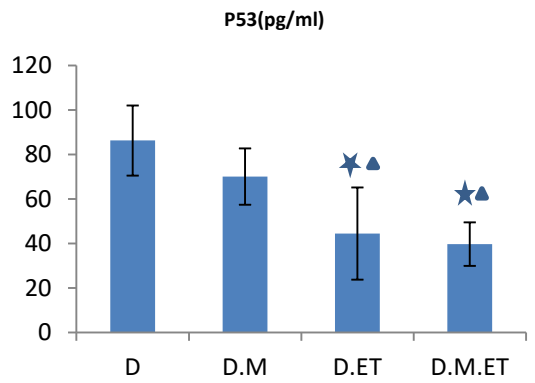
میانگین، انحراف معیار و نتایج آنالیز واریانس یک‌راهه متغیرهای مورد مطالعه در گروه‌های این مطالعه در جدول ۲ ارائه شده است. در مقایسه بین‌گروهی متغیر P53 با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (F=۱۶/۴۶۵ و $P=۰/۰۰۰$) و نتایج متغیر Nrf2 (F=۱۱/۰۶۹ و $P=۰/۰۰۰$) مشاهده شد که اختلاف معنادار است.

جدول ۲.میانگین، انحراف معیار و نتایج آنالیز واریانس یکراهه متغیرهای P53 و Nrf2 بافت کلیه درگروه‌های مورد مطالعه

متغیر	گروه‌های مورد مطالعه				F	P
	D	D.M	D.ET	D.M.ET		
(Pg/ml) P53	۸۶/۲۵±۱۵/۷۶	۷۰/۰۳±۱۲/۷۰	۴۴/۴۲±۲۰/۷۴	۳۹/۷۰±۹/۷۷	۱۶/۴۶۵	۰/۰۰۰
(pg/ml) Nrf2	۵/۴۹±۱/۴۹	۱۸/۹۷±۴/۸۵	۱۲/۸۵±۷/۰۳	۱۳/۶۸±۳/۶۹	۱۱/۰۶۹	۰/۰۰۰

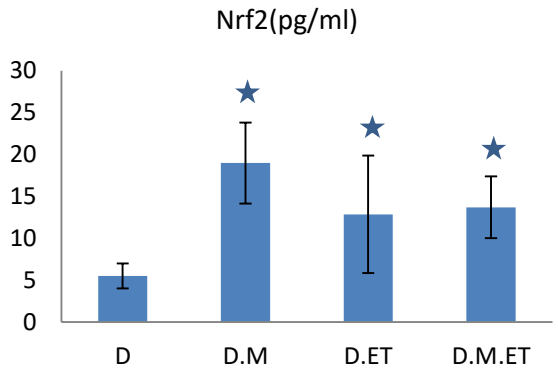
D = دیابت / DM = دیابت مرفین / D.ET = دیابت + تمرین استقامتی / DM.ET = دیابت مرفین + تمرین استقامتی/ سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵

نتایج آزمون تعقیبی توکی در خصوص متغیر P53 (شکل ۱) نشان داد که میانگین گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه دیابت کاهش داشته‌اند و این کاهش در گروه‌های دیابت+تمرین استقامتی (۰/۰۰۰) و گروه دیابت مرفین+تمرین استقامتی ($P=۰/۰۰۰$) در مقایسه با گروه دیابت معنادار می‌باشد. همچنین نتایج گروه‌های دیابت+تمرین استقامتی (۰/۰۱۲) و دیابت مرفین+تمرین استقامتی (۰/۰۰۲) در مقایسه با گروه دیابت مرفین کاهش معناداری نشان دادند ($P<۰/۰۵$). علاوه بر این گروه دیابت مرفین نیز نسبت به گروه دیابت کاهش غیر معنادار داشته است.



شکل.۱. سطح پروتئین P53 در گروه‌های مورد مطالعه. D = دیابت/ DM = دیابت مرفین/ D.ET = دیابت+تمرین استقامتی/ DM.ET = دیابت مرفین+تمرین استقامتی. ★ اختلاف معنادار نسبت به گروه دیابت ▲ اختلاف معنادار نسبت به گروه دیابت مرفین/ سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-09-14]



شکل ۲. سطح پروتئین Nrf2 در گروه‌های مورد مطالعه. D = دیابت / DM = دیابت مرفین / D.ET = دیابت + تمرین استقامتی / DM.ET = دیابت مرفین + تمرین استقامتی. ★ اختلاف معنادار نسبت به گروه دیابت/ سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵

در مقایسه میانگین گروه‌های مورد مطالعه متغیر Nrf2 (شکل ۲) با کمک آزمون تعقیبی توکی مشاهده شد که میانگین سطح پروتئین گروه‌های دیابت+تمرین استقامتی (۰/۰۲۰) و دیابت مرفین+تمرین استقامتی (۰/۰۰۹) و گروه دیابت مرفین (۰/۰۰۰) در مقایسه با گروه دیابت افزایش معنادار دارند. اما نتایج گروه‌های تمرین در مقایسه با گروه دیابت مرفین کاهش غیرمعنادار داشته‌اند ($P<۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس جست‌وجوهای به‌عمل آمده این اولین مطالعه‌ای است که تاکنون در خصوص اثر تمرین استقامتی بر تغییرات سطوح پروتئین‌های P53 و Nrf2 بافت کلیه موش‌های دیابتی همراه با سندروم ترک مرفین انجام شده است. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که تمرین استقامتی باعث کاهش سطح پروتئین P53 و افزایش سطح پروتئین Nrf2 شده است. هیپرگلیسمی حاد و مزمن منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود و این محرک اصلی برای آپوپتوز سلول‌های بافت کلیه می‌باشد. در طول دوره‌های هیپرگلیسمی، سلول‌های کلیوی نمی‌توانند ورودی گلوکز به داخل سلول را کاهش دهند، در نتیجه سطح سوبسترای زنجیره انتقال الکترون میتوکندری افزایش می‌یابد که منجر به سرریز زنجیره تنفسی می‌شود. به طور معمول، مقدار کمی از ROS در نتیجه واکنش حامل‌های الکترون به طور مستقیم با اکسیژن تشکیل می‌شود اما در طول این سرریز، الکترون‌های پشتیبان‌شده منجر به حامل‌های الکترون‌های فعال‌تر و در نتیجه افزایش تولید ROS می‌شوند [۱۹]. این احتمال وجود دارد که در بیماران دیابتی ترکیبی از افزایش تشکیل ROS و کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به آپوپتوز سلول‌های کلیوی شود [۲۰]. در کلیه دیابتی ROS از طریق مسیرهای مختلف تولید می‌شود. هنگامی که ظرفیت محافظت سلولی و آنتی‌اکسیدانی کافی نباشد، ROS باعث آپوپتوز می‌شود [۱۹]. P53 یکی از مهم‌ترین سرکوب‌گرهای تومور به شمار می‌رود که در پاسخ به عوامل مختلفی از استرس سلولی مانند آسیب DNA هایپوکسی شدید، پیری سلولی و فشارهای اکسایشی بالا افزایش یافته و فعال می‌شود [۲۱]. P53 توسط ROS تنظیم می‌شود. هم‌چنین P53 با پروتئین‌های مختلف در غشای خارجی میتوکندری، مانند پروتئین‌های ضدآپوپتوز Bcl-2 و Bcl-x تعامل می‌کند تا فعالیت آن‌ها را مسدود کرده و آپوپتوز را القا کند [۲۲]. P53 شبکه گسترده‌ای از سیگنال‌ها را تحریک می‌کند که از طریق دو مسیر اصلی آپوپتوز عمل می‌کنند. مسیر گیرنده مرگ بیرونی باعث فعال شدن یک آبشار کاسپاز می‌شود و مسیر درونی میتوکندریایی تعادل در خانواده Bcl-2 را به سمت اعضای طرفدار آپوپتوز تغییر می‌دهد و باعث تشکیل آپوپتوزوم و در نتیجه آپوپتوز با واسطه کاسپاز می‌شود. تاثیر این دو مسیر آپوپتوز ممکن است زمانی افزایش یابد که از طریق Bid که یک هدف P53 است، همگرا شوند [۶]. از طرفی ورزشکارانی که سطح آمادگی جسمانی بالایی دارند، سطح پایینی از استرس‌اکسیداتیو را تجربه کرده و متعاقباً با آپوپتوز کم‌تری مواجه می‌شوند. به نظر می‌رسد که تا حدودی به دلیل افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن باشد. از این منظر، سلول‌ها از آسیب ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد محافظت می‌شوند زیرا سطح آنتی‌اکسیدان در افرادی که به طور منظم ورزش می‌کنند افزایش می‌یابد [۲۲]. همسو با نتایج مطالعه ما، نتایج پژوهش جوکار و شرافتی مقدم (۱۴۰۰) نشان داد که تمرین HIIT منجر به کاهش محتوای بافتی پروتئین P53 قلب می‌شود [۲۳]. هم‌چنین یافته‌های مطالعه سیدقمی و همکاران (۱۳۹۶) نشان داد که تمرین استقامتی با شدت بالا تفاوت معناداری در بیان ژن‌های P53 عضله نعلی موش‌های صحرایی نر بین گروه تجربی و کنترل ایجاد نکرد [۲۴] که با نتایج ما مطابقت ندارد. از دلایل احتمالی آن می‌توان به شدت تمرین استقامتی، نوع بافت و دیابتی نبودن رت‌ها و هم‌چنین تفاوت در استفاده از نوع روش آزمایشگاهی در اندازه‌گیری اشاره کرد. از طرفی کند کردن پیشرفت آسیب کلیه و کنترل عوارض مرتبط با دیابت به یک هدف اصلی تبدیل شده است [۲۵]. Qi و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که تمرین ورزشی استرس‌اکسیداتیو و محتوای پروتئین P53 را در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی نوع ۲ کاهش داد [۲۶] که همسو با یافته‌های این پژوهش می‌باشد. هنگامی که استرس‌اکسیداتیو روی می‌دهد سلول‌ها برای مقابله با اثرات اکسیدکنندگی ناشی از ROS تلاش می‌کنند که از طریق فعال‌کردن یا خاموش‌کردن

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-09-14]

ژن‌های رمزگذاری فاکتورهای رونویسی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پروتئین‌های ساختاری، تعادل را بازیابی کنند. یکی از مهم‌ترین فاکتورهای رونویسی کنترل‌کننده اکسیداسیون/احیای سلول‌ها، فاکتور هسته‌ای اریتروئید دو مرتبط با فاکتور دو (فاکتور رونویسی Nrf2) است که از طریق تولید بیش از حد Ros فعال می‌شود و سبب تولید آنزیم‌ها و پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی و سایتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود [۲۷]. به عبارت دیگر در بافت‌ها، پروتئین‌هایی وجود دارند که به اکسیداسیون- احیا حساس بوده و مسیرهای پیام‌رسانی مولکولی که در شرایط اکسیداتیو القا می‌شود را مسدود و یا فعال می‌کنند. برخی از این پروتئین‌ها مثل فاکتور اریتروئید هسته‌ای، یک فاکتور رونویسی می‌باشد که نقش مهمی در دفاع سلول علیه آسیب‌های اکسیداتیو را ایفا می‌کند. در شرایط طبیعی، فاکتور اریتروئید هسته‌ای در سیتوپلاسم توسط پروتئین KEAP1 (Kelch like-Ech Associated Protein 1) به دام می‌افتد تا نهایتاً با یوبیکوئیتینه شدن تخریب شود [۲۸]. KEAP1 حاوی چندین ریشه سیستئین (Cysteine) است و فعالیت فاکتور اریتروئید هسته‌ای را تنظیم می‌کند. در پاسخ به استرس‌اکسیداتیو، تغییرات ایجاد شده در ریشه‌های سیستئین KEAP1 موجب می‌شود که فاکتور اریتروئید هسته‌ای از آن جدا شده و به درون هسته سلول مهاجرت کند و در آن‌جا به ژن‌های حاوی ARE که به پروموتور ARE متصل شده و موجب افزایش بیان آنزیم‌های موثر در دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن شود از قبیل هم‌اکسیژناز، گلوتاتیون‌پراکسیداز، گلوتاتیون، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز که همگی نقش حیاتی در دفاع آنتی‌اکسیدانی در مقابل واکنشگرهای مضر ایفا می‌کنند [۲۹]. در واقع مسیر آنتی‌اکسیدانی Nrf2/Keap1 در سلول از آسیب سلولی در مقابل استرس‌اکسیداتیو جلوگیری می‌کند و این مسیر در اثر دیابت مختل می‌شود [۳۰]. از طرفی تمرینات ورزشی منظم باعث افزایش بیان و عملکرد Nrf2 می‌شود. افزایش فعالیت Nrf2 تنظیم رونویسی آنتی‌اکسیدان‌های وابسته به ARE را انجام می‌دهد و موجب افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود [۳۱]. نتایج پژوهش ما نیز نشان داد که تمرین استقامتی باعث افزایش سطح پروتئین Nrf2 شده است. همسو با مطالعه ما یافته‌های کریلی (۲۰۱۶) و همکاران در بررسی نقش Nrf2 در انقباض عضلات اسکلتی و عملکرد میتوکندری نشان دادند که فعالیت رونویسی Nrf2 با ورزش افزایش می‌یابد [۳۲]. هم‌چنین نتایج مطالعه عباسی و همکاران (۱۳۹۷) نشان داد که هشت هفته تمرین هم‌زمان استقامتی و مقاومتی منجر به افزایش سطوح پلاسمایی Nrf2 گردید [۳۳]. در مطالعه‌ای نیز باعزم و همکاران (۱۴۰۱) مشاهده کردند که القای دیابت باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های Nrf2 در بافت بیضه رت‌ها شد و انجام ده هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌دار سطح Nrf2 گردید [۳۰]. که با مطالعه ما مطابقت دارد. در گروه سندروم ترک نتایج ما نشان داد که تمرین استقامتی باعث کاهش سطح پروتئین P53 شده است. از دلایل این کاهش، ممکن است افزایش فاکتور تنظیم‌کننده آنتی‌اکسیدانی یعنی Nrf2 در اثر تمرین استقامتی باشد که احتمالاً باعث افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت کلیه شده است. و در مورد متغیر Nrf2 در گروه سندروم ترک، تمرین باعث افزایش این متغیر در مقایسه با گروه دیابت شد ولی در مقایسه با گروه دیابت مرفین کاهش مشاهده شد که دلایل این کاهش نامشخص است و مکانیسم آن مبهم است لذا نیاز به مطالعات آتی ضروری می‌باشد. در خصوص پیشینه مطالعاتی سندروم ترک مرفین در مطالعات موجود، صالحی و همکاران (۲۰۱۸) اثر تمرینات مختلف ورزشی را در رت‌های معتاد به مرفین بررسی کردند که مشاهده شد ورزش سبب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در روده گردید و به طور معنی‌داری استرس‌اکسیداتیو و تغییرات مورفولوژیک روده را در موش‌های قطع مصرف نرمال کرد [۳۴]. هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگر عباسی و همکاران (۱۴۰۱) نیز نشان دادند که استفاده از انواع مختلف تمرین ورزشی باعث افزایش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو و التهابی در بافت کبد گروه سندروم ترک مرفین گردید و ورزش سبب بهبود آسیب بافتی کبد ناشی از مصرف مرفین گردید [۱۴]. با توجه به این‌که در سندروم ترک مرفین، استفاده از داروهای مختلف معمولاً اثربخشی کمی دارند و سبب وابستگی فرد به مواد جدید می‌گردد. لذا به نظر می‌رسد ورزش یکی از روش‌های موثر و کم‌هزینه درمان اعتیاد باشد [۳۵].

با توجه به این‌که جامعه آماری این پژوهش رت‌های دیابتی بودند لذا از محدودیت‌های این مطالعه، عدم وجود گروه‌های سالم و سالم مرفینی و هم‌چنین عدم اندازه‌گیری شاخص‌های التهابی، استرس‌اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. بنابراین جهت نتایج دقیق‌تر پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی، گروه‌های غیردیابتی یا سالم و سالم مرفینی نیز مورد مطالعه قرار گیرند و هم‌چنین شاخص‌های التهابی، استرس‌اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدان‌ها نیز اندازه‌گیری شوند.

نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین استقامتی موجب افزایش میزان پروتئین تنظیمی آنتی‌اکسیدانی Nrf2 شد که در نتیجه منجر به کاهش سطح پروتئین آپوپتوزی P53 در

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-09-14]

گروه‌های تمرین گردید. به نظر می‌رسد ورزش با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی یکی از روش‌های موثر در کاهش آسیب در بافت کلیه در بیماران دیابتی و دیابتی همراه با سندروم ترک مرفین می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از قسمتی از رساله دکتری نویسنده اول در رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد می‌باشد و با هزینه شخصی انجام شده است. نویسندگان از تمامی افرادی که در انجام این پژوهش با آن‌ها همکاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایند. ضمناً نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

مشارکت و نقش نویسندگان

نویسنده اول، دوم و سوم: ایده و طراحی مطالعه، نویسنده اول: جمع‌آوری داده‌ها و آنالیز و تفسیر نتایج، نویسنده اول: نگارش نسخه اولیه، نویسنده اول و دوم: ویرایش نسخه اول مقاله، در ضمن همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

منابع

[1] Karimi MN, Abbasalipourkabir R, Arab Sadeghabadi Z, Ziamajidi N. The level of gene expression of Bax and Bcl-2 and the activity of caspase 3 in the liver tissues of normal, type 1 and type 2 diabetic rats before and after treatment with aqueous extract of garlic. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 7: 547-555. (Persian)

[2] Seyedi ZS. Oxidative stress and human diseases: a review. Iran J Biol 2022; 10: 134-141.

[3] Negi CK, Jena G. Nrf2, a novel molecular target to reduce type 1 diabetes associated secondary complications: The basic considerations. Eur J Pharmacol 2019; 843: 12-26.
https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.10.026
PMid:30359563

[4] Nguyen T, Sherratt PJ, Pickett CB. Regulatory mechanisms controlling gene expression mediated by the antioxidant response element. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2003; 1: 233-260.
https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140229
PMid:12359864

[5] Jiménez-Osorio AS, Picazo A, González-Reyes S, Barrera-Oviedo D, Rodríguez-Arellano ME, Pedraza-Chaverri J. Nrf2 and redox status in prediabetic and diabetic patients. Int J Mol Sci 2014; 11: 20290-20305.
https://doi.org/10.3390/ijms151120290
PMid:25383674 PMCid:PMC4264167

[6] Haupt S, Berger M, Goldberg Z, Haupt Y. Apoptosis - the p53 network. J Cell Sci 2003; 20: 4077-4085.
https://doi.org/10.1242/jcs.00739
PMid:12972501

[7] Asadikaram G, Asiabanha M, Sirati Sabet M. Ovary cells apoptosis in opium-addicted diabetic and non-diabetic rats. Int J High Risk Behav Addict 2013; 1: 3-7.
https://doi.org/10.5812/ijhrba.8409
PMid:24971264 PMCid:PMC4070143

[8] Singh VK, Bajpai K, Biswas S, Haq W, Khan MY, Mathur KB. Molecular biology of opioid receptors: recent advances. Neuroimmunomodulation 1997; 5-6: 285-297.
https://doi.org/10.1159/000097349
PMid:9650823

[9] Lux F, Brase DA, Dewey WL. Differential effects of subcutaneous and intrathecal morphine administration on blood glucose in mice: comparison with intracerebroventricular administration. J Pharmacol Exp Ther 1988; 1: 187-194.

[10] Mirzaei A, Zendehdel K, Rashidian H, Aghaii M, Ghahestani SM, Roudgari H. The impact of OPIUM and its derivatives on cell apoptosis and angiogenesis. Translat Res Urol 2020; 4: 110-117.

[11] Singhal PC, Sharma P, Kapasi AA, Reddy K, Franki N, Gibbons N. Morphine enhances macrophage apoptosis. J Immunol 1998; 4: 1886-1893.
https://doi.org/10.4049/jimmunol.160.4.1886

[12] Reymond S, Vujić T, Schvartz D, Sanchez JC. Morphine-induced modulation of Nrf2-antioxidant response element signaling pathway in primary human brain microvascular endothelial cells. Sci Rep 2022; 1: 4588.
https://doi.org/10.1038/s41598-022-08712-0
PMid:35301408 PMCid:PMC8931063

[13] Negharestani HR, Hosseinpour S, Azizi M, Azarbaijani M A, Farzanegi P. The effect of combination of regular continuous exercise and resveratrol supplementation on some regulatory and executive factors of hepatocytic apoptosis in male diabetic rats. Feyz 2019; 6: 605-614.

[14] Abbasi E, Salehi I, Zarin Kalam E, Ranjbar K. Mirzaei F, Komaki AR, et al. Protective effect of exercise on liver oxidative stress, inflammation and histopathological changes after morphine withdrawal in rats. J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 207: 26-37. (Persian)

[15] Punitha IS, Rajendran K, Shirwaikar A. Alcoholic stem extract of Coscinium fenestratum regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant status in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. Evid Based Complement Alternat Med 2005; 3: 375-381.
https://doi.org/10.1093/ecam/neh099
PMid:16136216 PMCid:PMC1193540

[16] Jalalvand A, Heidarianpour A, Almasi J. Acute effects of swimming exercise on withdrawal syndrome sign in morphine-dependent rats. Sabzevar Univ Med Sci 2013; 3: 373-379. (Persian)

[17] Salmanzadeh F, Fathollahi Y, Semnanian S, Shafizadeh M, Kazemnejad A. Dependence on morphine leads to a prominent sharing among the different mechanisms of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampus. Brain Res 2003; 1-2: 93-100.
https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)03947-1
PMid:12560114

[18] Yousefi MR, Taheri-chadorneshin H. The effect of moderate endurance training on gastrocnemius retinol-binding protein 4 and insulin resistance in streptozotocin-induced diabetic rats. Interv Med Appl Sci 2018; 1: 59-63.
https://doi.org/10.1556/1646.9.2017.34
PMid:30363341 PMCid:PMC6167634

[19] Wagener FA, Dekker D, Berden JH, Scharstuhl A, van der Vlag J. The role of reactive oxygen species in apoptosis of the diabetic kidney. Apoptosis 2009; 12: 1451-1458.
https://doi.org/10.1007/s10495-009-0359-1
PMid:19466552 PMCid:PMC2773115

[20] Quan S, Kaminski PM, Yang LM, Morita T, Inaba M, Ikehara S, et al . Heme oxygenase-1 prevents superoxide anion-associated endothelial cell sloughing in diabetic rats. Biochem Biophys Res Commun 2004; 2: 509-516.
https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.01.086
PMid:14766238

[22] Sharafi H, Rahimi R. The effect of resistance exercise on p53, caspase-9, and caspase-3 in trained and untrained men. J Strength Cond Res 2012; 4: 1142-1148.
https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e31822e58e5
PMid:22446679

[24] Seyedgomi F, Bashiri J, Gholami F. Effect of high intensity endurance training on p53 and cytochrome-c gene expression in male rat soleus muscle. Armaghane-danesh 2017; 5: 608-622. (Persian)

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-09-14]

[25] Sha J, Sui B, Su X, Meng Q. Zhang CH. Alteration of oxidative stress and inflammatory cytokines induces apoptosis in diabetic nephropathy. Mol Med Rep 2017; 16: 7715-7723.
https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7522
PMid:28944839

[26] Qi Z, He J, Zhang Y, Shao Y, Ding S. Exercise training atenuates oxidatve stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetc Goto-Kakizaki rats. Free Radic Biol Med 2011; 7: 794-800.
https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.022
PMid:21185935

[23] Jokar M, Sherafati Moghadam M. Effect of 4 weeks of high-intensity interval training on P53 and Caspase-3 proteins content in the heart muscle tissue of rats with type 1 diabetes. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 1: 4255-4267. (Persian)
https://doi.org/10.18502/ssu.v29i11.8502

[27] Sun J, Fu J, Li L, Chen C, Wang H, Hou Y, et al. Nrf2 in alcoholic liver disease. Toxicol Appl Pharmacol 2018; 357: 62-69.
https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.08.019
PMid:30165058

[28] Cuadrado A, Pajares M, Benito C, Jiménez-Villegas J, Escoll M, Fernández-Ginés R, et al. Can activation of NRF2 be a strategy against COVID-19? Trends Pharmacol Sci 2020; 9: 598-610.
https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.07.003
PMid:32711925 PMCid:PMC7359808

[29] McCord JM, Hybertson BM, Cota-Gomez A, Geraci KP, Gao B. Nrf2 activator PB125 as a potential therapeutic agent against COVID-19. Antioxidants 2020; 6: 518.
https://doi.org/10.3390/antiox9060518
PMid:32545518 PMCid:PMC7346195

[30] Nadi Z, Abbasi Y, Jalali Mashayekhi F, Bayat M, Bayat P, Baazm M. Correction to: effect of resistance and endurance trainings on Nrf2/Keap1 signaling pathway in testicular tissue of type 2 diabetic rats. J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 216: 194-195. (Persian)

[31] Farajtabar Z, Fathi R, Nasiri Kh, Ahmadi F. The effect of aerobic exercise and ethanol consumption on Nrf2 gene expression in heart tissue and some antioxidant indices in Male rat. Sport Physiol 2021; 49: 65-88.

[32] Crilly MJ, Tryon LD, Erlich AT, Hood DA. The role of Nrf2 in skeletal muscle contractile and mitochondrial function. J Appl Phys 2016; 3: 730-740.
https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00042.2016
PMid:27471236 PMCid:PMC5142253

[33] Abbasi S, Avandi S M, Haghshenas R. The effect of eight weeks Concurrent training on plasma levels of NRF2 in young men. J Appl Health Stud Sport Phys 2018; 2: 78-83.

[34] 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 J Med Biochem 2018; 2: 44-49.
https://doi.org/10.15171/ajmb.2018.10

[35] McLellan AT. Have we evaluated addiction treatment correctly? Implications from a chronic care perspective. Addiction 2002; 3: 249-252.
https://doi.org/10.1046/j.1360-0443.2002.00127.x
PMid:11964098

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-09-14]

Evaluation of P53 and Nrf2 protein levels in kidney tissue after 8 weeks of endurance training in diabetic rats with morphine withdrawal syndrome

Behzad Azadbakht (Ph.D Student)[1], Abbas Saremi (Ph.D)[*2], Mojtaba Khansooz (Ph.D)[1]
1- Dept. of Physical Education, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran
2 – Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Arak University, Arak, Iran

* Corresponding author. +098 9163622668 a-saremi@araku.ac.ir
Received: 16 Jul 2023; Accepted: 7 Jan 2024

Introduction*:* P53 protein is one of the factors regulating apoptosis and Nrf2 is the main regulator of antioxidant proteins. This study aimed to evaluate P53 and Nrf2 protein levels in kidney tissue after 8 weeks of endurance training in diabetic rats with morphine withdrawal syndrome.

Materials and Methods*:* In this experimental study, 32 Wistar rats were used, which were randomly divided into 4 groups of 8. After inducing diabetes and creating dependence on morphine by oral method, the training groups performed an endurance training protocol for 8 weeks. The groups included: diabetes (D), morphine diabetes (D.M), diabetes+ endurance training (D.ET), and morphine diabetes+ endurance training (D.M.ET). On the last day of the study, all rats were killed and their kidneys were removed. The protein levels of the indicators of this study were measured by ELISA kits.

Results: The results of this study showed that the P53 protein level in the D.ET training group (P=0.000) compared to the D group and the D.M.ET training group (P=0.002) compared to the D.M. group, has a significant decrease. It was also observed that the Nrf2 protein level increased significantly in the D.ET (P=0.020) and D.M.ET (P=0.009) training groups compared to the D group.

Conclusion: Endurance training by increasing Nrf2 probably strengthens the antioxidant system and reduces oxidative stress. By reducing p53, it reduces the apoptosis of kidney tissue in diabetic and diabetic rats with morphine withdrawal syndrome.

Keywords*:* Endurance Training, P53, Nrf2, kidney, Morphine

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-09-14]