



Research Article

The Effect of Aerobic Training and Berberine Supplementation on the Expression of Dopamine 4 Receptor and CREB Gene in Heart Tissue of Female Rats During Withdrawal from Methamphetamine

Zahra Mortezaei ¹ , Somayeh Rajabi ^{1,*} , Sayyed-Javad Ziaolhagh ¹ 

¹ Department of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

* **Corresponding author:** Somayeh Rajabi, Department of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran. E-mail: Rajabi_66_s@yahoo.com

DOI: [10.61186/jams.26.3.18](https://doi.org/10.61186/jams.26.3.18)

How to Cite this Article:

Mortezaei Z, Rajabi S, Ziaolhagh SJ. The Effect of Aerobic Training and Berberine Supplementation on the Expression of Dopamine 4 Receptor and CREB Gene in Heart Tissue of Female Rats During Withdrawal from Methamphetamine. *J Arak Uni Med Sci.* 2023;**26**(3):18-24. DOI: [10.61186/jams.26.3.18](https://doi.org/10.61186/jams.26.3.18)

Received: 02 Jan 2024

Accepted: 15 Mar 2024

Keywords:

Berberine
cAMP Response Element
Binding protein (CREB)
Exercise
Dopamine
Methamphetamine

© 2023 Arak University of Medical Sciences

Abstract


Introduction: Methamphetamine increases the release of dopamine from nerve terminals. Binding of dopamine to dopamine receptors increases the phosphorylation of cyclic adenosine monophosphate responsive element (CREB) protein and changes the transcription of downstream genes. The purpose of this study is to investigate the effect of methamphetamine induction followed by aerobic training and Berberine on dopamine receptor 4 and CREB gene expression in the heart tissue of methamphetamine-addicted female rats during the withdrawal period.

Methods: 30 rats were randomly divided into 5 control groups, methamphetamine, methamphetamine + aerobic training, methamphetamine + Berberine, methamphetamine + aerobic training + Berberine. Intraperitoneal injection of 10 mg/kg of methamphetamine was performed for 5 days, and during the withdrawal period, aerobic training was performed for 4 weeks and simultaneously the consumption of berberine 100 mg/kg as a solution in drinking water was considered. Real Time PCR method was used to measure gene expression. Independent T-test, Kruskal-Wallis test and SPSS24 software were used at the level of 0.05 to analyze the data. The code of ethics in the research was received with number IR.IAU.SHAHROOD.REC.1402.015.

Results: The results showed that methamphetamine use caused a non-significant increase (97%) in CREB expression and a non-significant decrease (52%) in dopamine 4 receptor compared to the control group ($P > 0.05$). The implementation of interventions during the withdrawal period, such as Berberine consumption and the combination of berberine with aerobic training, produced non-significant increasing and decreasing effects on dopamine 4 receptor gene expression and CREB in the heart of methamphetamine-addicted rats, respectively ($P > 0.05$).

Conclusions: Short-term induction of methamphetamine did not cause significant changes in the expression of dopamine 4 receptor and CREB genes in the heart. Therefore, these genes could not undergo a significant change as a result of interventions such as Berberine and exercise. More studies are needed to investigate exact genetic changes in heart tissue.

تأثیر تمرین هوازی و مکمل بربرین بر بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ و CREB در بافت قلب موش‌های ماده در دوره ترک مت آمفتامین

زهره مرتضایی^۱، سمیه رجبی^{۱*}، سید جواد ضیاءالحق^۱ 

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران
* نویسنده مسئول: سمیه رجبی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران.

ایمیل: Rajabi_66_s@yahoo.com

DOI: 10.61186/jams.26.3.18

چکیده	تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۱
مقدمه: مت آمفتامین سبب افزایش رهایش دوپامین از پایانه‌های عصبی می‌شود. اتصال دوپامین به گیرنده‌های دوپامینی باعث افزایش فسفوریلاسیون پروتئین متصل‌شونده به عنصر واکنش دهنده به آدنوزین مونوفسفات حلقوی (CREB) و تغییر رونویسی ژنهای پایین دستی می‌شود. هدف این پژوهش بررسی تأثیر القاء مت آمفتامین و پس از آن به کارگیری تمرین هوازی و بربرین بر بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ و CREB در بافت قلب موش‌های ماده در دوره ترک مت آمفتامین می‌باشد.	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴
روش کار: سر موش صحرائی به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، مت آمفتامین، مت آمفتامین + فعالیت هوازی، مت آمفتامین + بربرین، مت آمفتامین + فعالیت هوازی + بربرین تقسیم‌بندی شدند. تزریق درون صفاقی مت آمفتامین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۵ روز انجام شد و در دوره ترک به مدت ۴ هفته تمرین هوازی و همزمان مصرف بربرین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت محلول در آب آشامیدنی در نظر گرفته شد. برای سنجش بیان ژن‌ها از روش Real Time PCR استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون T مستقل و آزمون کروسکال والیس و نرم افزار SPSS24 در سطح ۰/۰۵ استفاده شد. کد اخلاق در پژوهش با شماره IR.IAU.SHAHROOD.REC.1402.015 دریافت گردید.	واژگان کلیدی: بربرین پروتئین متصل شونده به عامل واکنش دهنده به آدنوزین مونوفسفات حلقوی (CREB) ورزش دوپامین مت آمفتامین
یافته‌ها: نتایج نشان داد مصرف مت آمفتامین سبب افزایش غیرمعنادار (۹۷ درصدی) بیان CREB و کاهش غیرمعنادار (۵۲ درصدی) گیرنده دوپامین ۴ نسبت به گروه کنترل شد ($P>0/05$). اجرای مداخلات در دوره ترک همچون مصرف بربرین به تنهایی و در ترکیب با تمرین هوازی، به ترتیب اثرات افزایشی و کاهشی غیرمعنادار بر بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ و CREB در بافت قلب موش‌های معتاد به مت آمفتامین ایجاد کرد ($P>0/05$).	تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.
نتیجه گیری: القاء کوتاه مدت مت آمفتامین، تغییر چندانی در بیان ژن‌های گیرنده دوپامین ۴ و CREB در قلب ایجاد نکرد. لذا این ژن‌ها در اثر مداخلاتی همچون بربرین و ورزش نیز نتوانست دستخوش تغییر چشمگیری شود. برای بررسی تغییرات ژنی دقیق در بافت قلب نیاز به مطالعات بیشتر می‌باشد.	

مقدمه

گیرنده‌هایی پروتئینی) جفت می‌شوند و به طور معمول، فعالیت گیرنده‌های دوپامین منجر به تغییرات سطوح آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) داخل سلولی می‌شود و آبشارهای پیام رسان را تحریک می‌کند (۵). همچنین بر اساس کدون ژنی، این گیرنده‌ها هر کدام به زیرگروه‌هایی از D1 تا D5 تقسیم می‌شوند. در پژوهشی نشان داده شده است که تنها چهار زیرگروه D1، D2، D4 و D5 از گیرنده‌های دوپامین را می‌توان در بافت قلب یافت که در اندوکارد، میوکارد و اپی‌کاردیوم تشخیص داده شده است. گیرنده‌های دوپامین در دیواره دهلیزها و بطن‌ها توزیع می‌شوند. دوپامین با ارسال سیگنال از طریق گیرنده‌های دوپامین، انقباض میوکارد و برنده قلبی را بدون تغییر ضربان قلب افزایش می‌دهد (۶). در واقع مت آمفتامین با مهار رقابتی جذب دوپامین از سیناپس‌ها، سطح دوپامین را در نوروسیناپس‌های دوپامینرژیک افزایش می‌دهد و جریان دوپامین را از

از میان انواع مواد مخدر، مت آمفتامین بسیار اعتیادآور است و بسیاری از اعضای بدن در معرض آسیب‌های مت آمفتامین و ناخالصی‌های آن قرار دارند (۱). مت آمفتامین اثر محرک خود را با تحریک فعالیت سیستم عصبی سمپاتییک و افزایش کاتکولامین‌ها اعمال می‌کند و از طریق انقباض عروق کرونر و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، چندین اثر نامطلوب در سیستم عصبی مرکزی و قلبی عروقی ایجاد می‌کند (۲). (۳). با این حال، مکانیسم‌ها و سایر پاسخ‌های پاتولوژیک سیستم قلبی عروقی در مصرف‌کنندگان مت آمفتامین تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است. مت آمفتامین به عنوان یک داروی تحریک کننده روانی اعتیادآور، سیستم عصبی مرکزی را با تغییر در فعالیت انتقال دهنده‌های عصبی مونوآمین خارج سلولی همچنین دوپامین، سروتونین، نوراپی نفرین با افزایش آزادسازی آن‌ها از پایانه‌های عصبی تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴). گیرنده‌های دوپامین به پروتئین‌های G)

با توجه به افزایش روز افزون اعتیاد به مت‌آمفتامین و تبدیل شدن به یک معضل جهانی، و با توجه به علائم شدیدی که این جامعه در دوره ترک تجربه خواهند کرد، ارائه راهکارهای درمانی مؤثر جهت مکانیسم‌های مربوط به آن کمک‌کننده خواهد بود. در همین راستا، با توجه به عدم مشاهده مطالعه درباره اثر تمرین ورزشی و یا اثر مکمل بربرین بر بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ و ژن CREB بافت قلب موش‌های معتاد به مت‌آمفتامین به عنوان مکانیسم‌های احتمالی درگیر، بررسی اثر بخشی تمرین ورزشی و مکمل بربرین به تنهایی و در ترکیب با هم به عنوان راهکارهای درمانی مؤثر در دوران ترک آمفتامین می‌تواند کمک‌کننده باشد. لذا، هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر القاء مت‌آمفتامین و سپس مصرف ۴ هفته مکمل بربرین و تمرین هوازی در دوره ترک بر بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ و CREB در بافت قلب موش‌های ماده معتاد به مت‌آمفتامین می‌باشد.

روش کار

تحقیق حاضر از نوع تحقیقات بنیادی بوده که به روش تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل انجام شد. جامعه آماری پژوهش حاضر شامل کلیه موش‌های ماده نژاد ویستار از آزمایشگاه دانشکده علوم پزشکی شاهرود بود. تعداد ۳۰ سر موش صحرانی ماده نژاد ویستار ۹ هفته سن با دامنه وزنی 10 ± 160 گرم، به عنوان نمونه آماری خریداری و به مدت یک هفته در سالن قرنطینه آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود با دمای محیطی ۲۲ درجه، رطوبت ۵۰ درصد و نور کنترل شده (چرخه ۱۲ ساعته روشنایی تاریکی) منتقل شده و دوره سازش پذیری یک هفته‌ای را طی کردند. در ادامه با توجه به وزن، حیوانات در ۵ گروه ۶ تایی کنترل سالم، دریافت مت‌آمفتامین، مت‌آمفتامین + فعالیت هوازی، مت‌آمفتامین + بربرین، مت‌آمفتامین + فعالیت هوازی + بربرین تقسیم‌بندی شدند. غذای موردنیاز موش‌ها به صورت پلت تهیه و آب موردنیاز آن‌ها به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آنان قرار گرفت. آزمودنی‌ها به صورت آزادانه از غذای استاندارد و آب در طول دوره پژوهش استفاده کردند.

القاء مت‌آمفتامین

مت‌آمفتامین از شرکت سیگما آلد ریچ خریداری و در نرمال سالین ۰٫۹٪ محلول شد. جهت القای مت‌آمفتامین، همه گروه‌ها به جز گروه کنترل، میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز تزریق درون صفاقی مت‌آمفتامین (به دلیل ایجاد استرس مزمن) را با استفاده از سرنگ انسولین به مدت ۵ روز دریافت کردند (۱۷).

مکمل بربرین

سه روز پس از آخرین جلسه القاء مت‌آمفتامین، دوز مصرفی بربرین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۴)، به صورت محلول در آب آشامیدنی، در دوره ترک به مدت ۴ هفته برای گروه بربرین در نظر گرفته شد. گروه بربرین + تمرین هوازی نیز مکمل بربرین را با همین پروتکل همراه با تمرین هوازی دریافت کردند.

پروتکل تمرین هوازی

سه روز پس از آخرین جلسه القاء مت‌آمفتامین، پروتکل تمرین هوازی برای گروه‌های تمرین هوازی و بربرین + تمرین هوازی به صورت دویدن

ذخایر وزیکولی عصبی تحریک می‌کند (۷)، و برعکس، استفاده طولانی مدت از مت‌آمفتامین منجر به کاهش سنتز دوپامین و کاهش گیرنده‌ها می‌شود و باعث نقص در حافظه، توجه و عملکردهای تصمیم‌گیری می‌شود (۸).

پروتئین متصل‌شونده به عنصر واکنش دهنده به آدنوزین مونوفسفات حلقه‌ای (CREB) یک فاکتور رونویسی سلولی است که به توالی خاصی از DNA موسوم به «عناصر پاسخ‌دهنده به cAMP» اتصال می‌یابد و رونویسی ژن‌های بالادست و پائین‌دست را افزایش یا کاهش می‌دهد. کاهش تولید CREB در بروز بیماری آلزایمر نقش دارد و افزایش بیان آن از اهداف درمانی در این بیماری است (۹). CREB به عنوان یک تنظیم‌کننده رونویسی سطوح برخی پروتئین‌ها و مورفولوژی میتوکندری در قلب شناسایی شده است (۱۰). در خصوص ارتباط گیرنده‌های دوپامین با مولکول CREB می‌توان اینگونه بیان کرد که CREB یک مولکول حیاتی است که در انتقال سیگنال گیرنده‌های دوپامین نقش دارد. اتصال دوپامین به گیرنده‌های آن، فسفوریلاسیون CREB را از طریق مسیرهای متعدد افزایش می‌دهد. اتصال دوپامین به گیرنده‌های دوپامینی باعث افزایش سطح cAMP داخل سلولی و فعال شدن پروتئین کیناز (PKA) و به دنبال آن فسفوریلاسیون CREB می‌شود (۱۱). امروزه استفاده از روشهای درمانی غیردارویی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. یکی از این روش‌ها، انجام تمرین ورزشی است. ورزش طولانی مدت و منظم می‌تواند سیستم اپیوئیدی مرکزی را فعال کند و موجب تحریک رهایی اپیوئیدی درون‌زا و افزایش آستانه درد هم در انسان و هم جانوران گردد (۱۲). در تحقیقات انجام شده مشخص شد که با تمرین ورزشی، تغییرات معنی‌داری در میزان سروتونین و دوپامین و گیرنده‌های آنها در مناطقی از مغز ایجاد شد. بنابراین ورزش داوطلبانه می‌تواند به علت افزایش دوپامین و سروتونین در بهبود آسیب‌های حاصل از مصرف مواد به عنوان یک درمان کمکی غیردارویی مورد استفاده قرار گیرد (۱۳). با این وجود مطالعه‌ای که اثر ورزش را بر گیرنده‌های دوپامین در قلب بررسی کرده باشد، مشاهده نشد. به خاطر نقش مهم شناخته شده آسیب‌هایی از جمله آسیب اکسیداتیو در اثرات سمیت قلبی مت‌آمفتامین، استفاده راهکارهایی مقابله‌کننده با آن همچون استفاده از برخی مکمل‌های گیاهی ممکن است مفید باشد (۱۴). بربرین، عنصر فعال اصلی گیاه زرشک می‌باشد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند بربرین دارای چندین فعالیت فارماکولوژیک مانند آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد افسردگی، ضد توموری، کاهنده کلسترل، ضد درد و محافظت از قلب است. گزارش شده است که بربرین عملکرد قلب بیماران با نارسایی احتقانی قلب شدید را بهبود می‌بخشد و یک عامل محافظ در برابر تصلب شرایین است (۱۵).

مشکل سوءمصرف مت‌آمفتامین در سال‌های اخیر در کشورمان به مشکل جدی بهداشتی تبدیل شده است و راهکار درمانی مشخصی برای اعتیاد شناسایی نشده است. از طرفی جامعه زنان بیشتر مستعد آسیب‌های مت‌آمفتامین هستند و در عین حال به درمان‌ها بهتر پاسخ می‌دهند (۱۶). استفاده از ورزش و مکمل بربرین به صورت همزمان ممکن است در برخی ویژگی‌ها هنگام ترک مت‌آمفتامین اثر هم‌افزایی نیز داشته باشد. اگر چه مکانیسم‌هایی که از طریق آن ورزش و مکمل سبب بهبود معتادان به مت‌آمفتامین شود هنوز ناشناخته است. بنابراین

Fold change بیان ژن با استفاده از فرمول $(\Delta\Delta Ct) - 2^{\Delta}$ محاسبه و برای سنجش تغییرات بیان ژن‌ها به کار گرفته شد.

روش آماری

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از نتایج، بعد از بررسی پیش فرض‌های استفاده از آزمون یعنی تعیین نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیروویلیک و همچنین آزمون برابری واریانس‌ها (لوین)، جهت مقایسه میانگین گروه کنترل و مت‌آمفتامین از آزمون T مستقل و جهت مقایسه گروه مت‌آمفتامین با سایر گروه‌ها به دلیل عدم نرمالیتی داده‌ها از آزمون کروسکال والیس استفاده شد. تمام محاسبات با استفاده از نرم افزار SPSS24 و سطح معنی‌داری در تمام مراحل ۵ درصد ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

برای رعایت کردن ملاحظات اخلاقی نگهداری و رفتار با حیوانات پس از تأیید موضوع در شورای پژوهشی دانشگاه و اخذ مجوز کمیته اخلاق با شماره IR.IAU.SHAHROOD.REC.1402.015 از دانشکده علوم پزشکی دانشگاه آزاد شاهرود، روش‌های استاندارد و مطابق موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس قوانین کمیته اخلاقی مربوط به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود رعایت گردید.

یافته‌ها

با توجه به نتایج، داده‌های هر دو ژن در گروه کنترل و مت‌آمفتامین دارای توزیع نرمال بود، لذا از آزمون T مستقل برای مقایسه Fold change ژن‌های CREB و گیرنده دوپامین ۴ در این دو گروه استفاده شد. با توجه به نتایج آزمون T مستقل، اختلاف معناداری در بیان هر دو ژن CREB و گیرنده دوپامین ۴ گروه مت‌آمفتامین در مقایسه با گروه کنترل وجود ندارد ($P > 0.05$) (نمودار ۱). برای مقایسه بین گروه مت‌آمفتامین با سایر گروه‌ها با توجه به اینکه نرمالیتی در تمام گروه‌ها برقرار نشد، لذا از آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس استفاده شد. با توجه به نتایج جداول ۲ در بیان هر دو ژن گیرنده دوپامین ۴ و CREB تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد ($P > 0.05$). میزان و درصد تغییرات بیان ژن در گروه‌های مختلف در نمودار ۲ آورده شده است.

روی تردمیل جوندگان (شرکت دانش سالار ایرانیان، ایران) با پنج لاین مجزا انجام شد. قبل از شروع پروتکل تمرینی، حیوانات یک دوره آشناسازی با تردمیل را انجام دادند، به طوری که سرعت تردمیل برای دقایقی به شکل فزاینده تا سرعت ۱۸ متر بر دقیقه افزایش می‌یافت. برنامه اصلی تمرین هوازی به مدت ۴ هفته، ۶ روز در هفته (مجموعاً ۲۴ جلسه) با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه، به مدت ۳۰ دقیقه در روز انجام شد (۱۸). جلسات تمرین بین ساعت ۹ تا ۱۲ صبح انجام می‌شد.

در طی ۴ هفته ترک مت‌آمفتامین، گروه‌های مت‌آمفتامین و کنترل در قفس‌های خود قرا داشته و هیچ گونه مکمل یا تمرینی دریافت نکردند.

نمونه برداری و سنجش بیان ژن

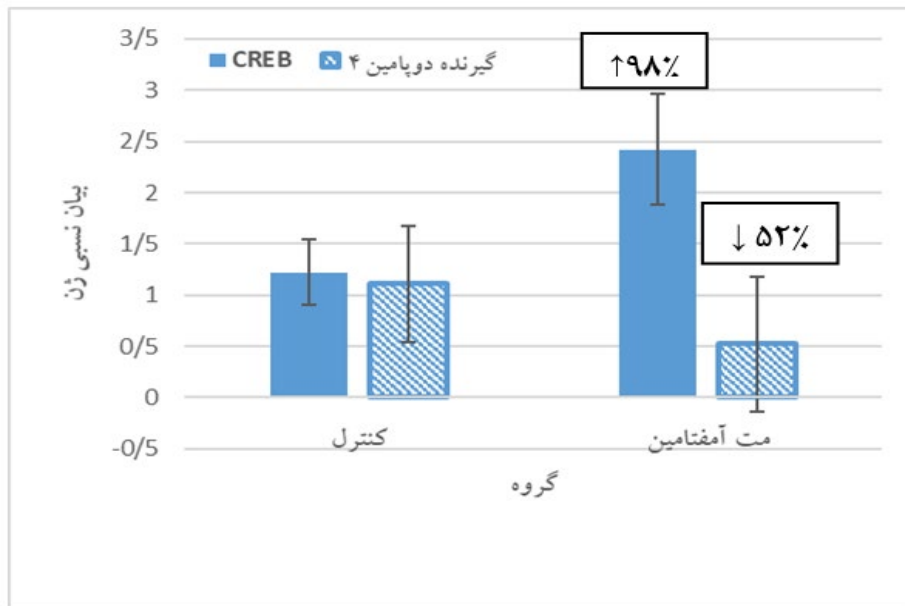
پس از پایان ۴ هفته تمرین و دریافت مکمل در نهایت با بیهوش کردن موش‌های صحرایی، نمونه بافت قلب جدا سازی شد. سپس نمونه‌های جدا شده از تمامی موش‌های صحرایی بلافاصله بعد از شستشو با سالیین داخل تیوب حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب قرار گرفت و به درون نیتروژن مایع موجود در تانک ازت منتقل و سپس به فریز منفی ۸۰ منتقل شد. سپس برای بررسی بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ و CREB به آزمایشگاه تحقیقات مولکولی ارسال شد تا با استفاده از کیت‌های مربوطه از طریق روش Real Time PCR میزان آن‌ها بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت با نام تجاری GENEALL (ساخت کشور کره جنوبی) به صورت کمی مشخص گردید. شیوه تبدیل RNA به cDNA به بدین صورت بود که در ابتدا تمام مواد کیت سنتز cDNA از دمای ۲۰- و نمونه‌های RNA از ۸۰- درجه خارج و پس از آب شدن به روی یخ منتقل شدند. تمامی مواد قبل از استفاده ورتکس کوتاه و اسپین شدند. جهت تهیه میکس RT، مواد لازم برای ساخت cDNA شامل بافر RT، آنزیم RT، پرایمر Oligo dT و آب DEPC با یکدیگر مخلوط شدند و سپس در میکروتیوب های ۰.۲ ml توزیع شدند. میکروتیوب های آماده شده حاوی RT mix و نمونه RNA در دستگاه ترموسایکلر یا Dry block heater گذاشته شد و برنامه‌های تغییر دمایی اجرا گردید. توالی و مشخصات پرایمرها (شرکت Meta Bio، کره جنوبی) و تغییرات دمایی آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. از ژن GAPDH به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. همچنین

جدول ۱. توالی و مشخصات پرایمرها

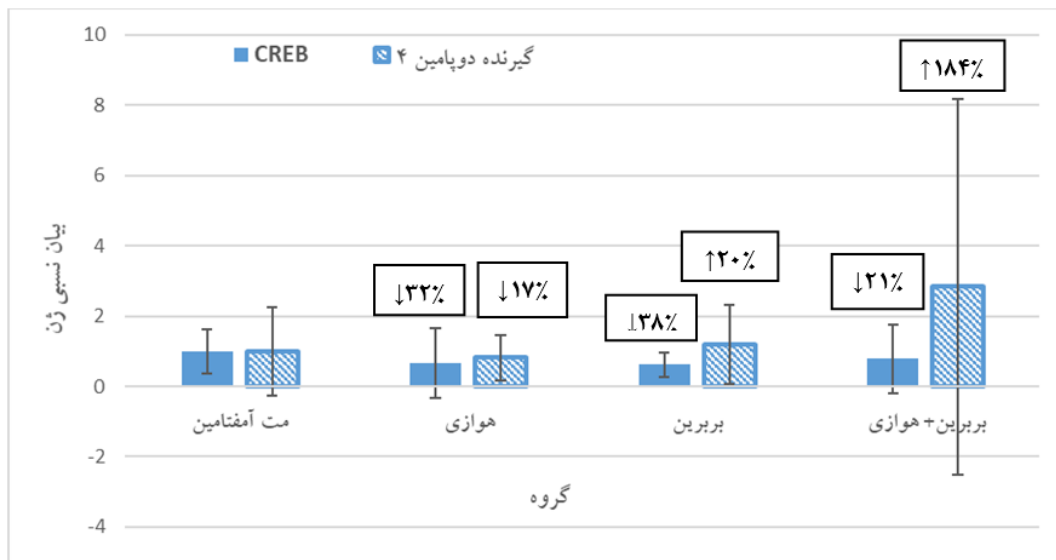
ژن	توالی پیشرو	توالی معکوس	دما (C°)
CREB	CACAGACCACTGATGGACAGCA	AGGACGCCATAACAACCTCCAGG	۵۹/۱
گیرنده دوپامین ۴	TGCTGCCGCTCTTCGTCTACTC	ACAGGTTGAAGATGGAGGCGGT	۵۶/۴
GAPDH	CAAGGTCATCCATGACAACCTT	GTCCACCACCCTGTTGCTGTA	۵۸

جدول ۲. نتایج آزمون کروسکال والیس در گروه‌های مختلف

متغیر / گروه	میانگین \pm انحراف استاندارد	میانگین رتبه	کروسکال والیس	سطح معناداری
گیرنده دوپامین ۴			۰/۷۲۳	۰/۸۶۸
مت‌آمفتامین	۰/۹۹ \pm ۱/۲۵	۱۰/۷۵		
ورزش	۸۱۵۰ \pm ۰/۶۵	۱۳/۳۳		
بربرین	۱/۲۰ \pm ۱/۱۳	۱۳/۹۲		
بربرین و ورزش	۲/۸۴ \pm ۵/۳۵	۱۲/۰۰		
CREB			۳/۵۶۸	۰/۳۱۲
مت‌آمفتامین	۰/۹۹ \pm ۰/۶۳	۱۶/۵۰		
ورزش	۰/۶۷ \pm ۱/۰۰	۹/۶۷		
بربرین	۰/۶۱ \pm ۰/۳۴	۱۳/۵۰		
بربرین و ورزش	۰/۷۸ \pm ۰/۹۷	۱۰/۳۳		



نمودار ۱. تغییرات بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ و CREB در دو گروه کنترل و مت‌آمفتامین



نمودار ۲. تغییرات بیان نسبی ژن گیرنده دوپامین ۴ و CREB در گروه مت‌آمفتامین و گروه‌های مداخله

اتوکربین و پاراکربین در سیستم‌های غیرعصبی نیز عمل می‌کند. دوپامین به طور گسترده‌ای به عنوان یکی از داروهای درمانی مورد استفاده برای بیماران مبتلا به نارسایی قلبی عروقی مورد استفاده قرار گرفته است. در تحقیقی نشان داده شد که بیان گیرنده DI دوپامین در سلول‌های قلبی نقش حیاتی در تحریک آریتمی بطنی مرتبط با ناتوانی قلبی و مکانیسم‌های مولکولی آن دارد و بیان گیرنده‌های DI دوپامین در بیماران قلبی تنظیم مثبت (افزایش بیان) داشته است. با این حال سیستم دوپامین-گیرنده دوپامین به طور گسترده در زمینه علوم اعصاب و در بخش‌های مختلف مغزی مورد بررسی قرار گرفته است، اما پرداختن به گیرنده‌های مختلف دوپامینی در اندام‌های دیگر به ویژه در قلب نیاز به مطالعات بیشتری دارد (۱۹). از طرفی تشکیل رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ممکن است در اثرات مت‌آمفتامین بر رهاپش دوپامین اثر بگذارد و آنتی

بحث

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، مصرف ۵ روز متوالی مت‌آمفتامین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز باعث کاهش غیرمعناداری در بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ نسبت به گروه کنترل شد (۵۲٪ کاهش)، در حالی که تمرینات هوازی به مدت چهار هفته در دوره ترک نتوانست تغییر چندانی در بیان این ژن ایجاد کند (۱۷ درصد کاهش). همچنین مداخلاتی همچون مصرف چهار هفته مکمل بربرین به تنهایی و به ویژه در ترکیب با تمرین هوازی در دوره ترک سبب افزایش غیرمعنادار بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ (به ترتیب ۲۰٪ افزایش و ۱۸۴٪ افزایش) در مقایسه با گروه مت‌آمفتامین شد.

دوپامین یک کاتکولامین اندوژنی است که به عنوان یک نورترانسمیتر در سیستم عصبی مرکزی عمل می‌کند، اما همچنین به عنوان یک

تحقیق حاضر پس از انجام تمرین هوازی، مصرف بربرین و مصرف بربرین به همراه تمرین هوازی کاهش (غیر معنادار) یافت، بنابراین ورزش هوازی و بربرین به عنوان عوامل ضد التهاب و آنتی اکسیدان ممکن است در بهبود سمیت قلبی ناشی از مت‌آفتمین از طریق همین مسیر نسخه برداری مؤثر باشد.

در پژوهشی که توسط همکاران شرکت کننده در پژوهشی با پروتکلی مشابه با تحقیق حاضر (القاء مت‌آفتمین، مصرف مکمل بربرین و اجرای تمرین هوازی مشابه)، یافته‌ها نشان داد القا مت‌آفتمین (۵ روز با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) توانست اثرات تخریبی در سلول و بافت قلبی موش‌های ماده و همچنین پرخونی و التهاب ایجاد کند. در حالی که تمرین هوازی، مصرف مکمل بربرین و به ویژه ترکیب تمرین هوازی با مکمل بربرین توانست سبب بهبود در ساختار بافت قلبی شده و وضعیت پرخونی و التهاب را کاملاً از بین ببرد. بنابراین تغییرات مشاهده شده در پژوهش آنان با تغییراتی هرچند غیرمعنادار در بیان ژن‌های پژوهش حاضر تقریباً همراستا است (۲۵). با این وجود، از سوی دیگر ممکن است ژن‌های مطالعه حاضر در مکانیسم ایجاد اختلال در قلب ناشی از مت‌آفتمین دخالت چندانی نداشته باشند و همانطور که در این تحقیق مشاهده کردیم دچار تغییر چشمگیری نشوند.

نتیجه گیری

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر ممکن است القاء کوتاه مدت (۵ روزه) مت‌آفتمین تغییر چندانی در بیان ژن‌های گیرنده دوپامین ۴ و CREB در قلب ایجاد نکند. مداخلات درمانی همچون مکمل بربرین و ترکیب آن با تمرین هوازی در دوره ترک با وجود اینکه اثرات کاهشی غیرمعنادار در بیان ژن CREB و اثرات افزایشی غیرمعنادار در بیان ژن گیرنده دوپامین ۴ در بافت قلب موش‌های ماده معتاد به مت‌آفتمین در دوره ترک ایجاد کرده، اما برای بیان اثربخشی دقیق تر و درک اثر تعاملی یا مکانیسم‌های مربوطه به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

تقدیر و تشکر

از تمامی کسانی که در اجرای این پژوهش ما را یاری کردند، صمیمانه تشکر می‌کنیم.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

سهم نویسندگان

در این مقاله، نویسنده اول مسئول اجرای مطالعه، آنالیز آماری و نگارش مقاله بوده و نویسنده دوم طرح ایده، نظارت بر حسن اجرای مطالعه، تحلیل آماری و نگارش مقاله را بر عهده داشته و نویسنده سوم در طرح ایده و نظارت بر حسن اجرای مطالعه مشارکت داشته است.

ملاحظات مالی

این پژوهش مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول (شماره ۱۶۲۷۴۹۵۷۸) می‌باشد. انجام پژوهش حاضر هیچ گونه حمایت مالی دریافت نکرده است.

اکسیدان‌ها (مانند بربرین) از رهايش دوپامین ناشی از مت‌آفتمین ممانعت می‌کنند (۲۰). بنابراین از آنجایی که میزان رهايش دوپامین ممکن است بر گیرنده‌های پس‌سیناپسی خود اثر بگذارد، این احتمال وجود دارد که در تحقیق حاضر افزایش رهايش دوپامین و متعاقب آن افزایش اکسیدان‌ها در اثر مصرف مت‌آفتمین سبب تغییرات سازشی و کاهش گیرنده‌های دوپامین ۴ شده باشد و مصرف مکمل بربرین به ویژه همراه با تمرینات هوازی، با بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی سبب افزایش غیرمعنادار گیرنده دوپامین ۴ شده باشد که البته در تحقیق حاضر میزان دوپامین و وضعیت اکسیدانی سنجیده نشد.

همچنین یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که مصرف مت‌آفتمین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۵ روز متوالی، باعث ایجاد افزایش ۹۷ درصدی در بیان ژن CREB قلبی نسبت به گروه کنترل شد اما این افزایش به لحاظ آماری معنادار نبود؛ همچنین مداخلاتی به مدت ۴ هفته در دوره ترک مت‌آفتمین همچون تمرین هوازی، مصرف مکمل بربرین، و ترکیب تمرین هوازی با مصرف بربرین در دوره چهار هفته‌ای ترک سبب کاهش غیرمعنادار بیان ژن CREB (به ترتیب ۳۲٪ کاهش، ۳۸٪ کاهش و ۲۱٪ کاهش) در مقایسه با گروه مت‌آفتمین شد.

از جمله یافته‌های ناهمسو با پژوهش حاضر می‌توان به پژوهشی اشاره کرد که در آن سطوح بیان و فسفریلاسیون CREB و سطوح بیان و فسفریلاسیون PKA (یک کیناز کلیدی برای فسفریلاسیون CREB) به طور معناداری در بافت قلب موش‌های صحرایی نر گروه مصرف کننده مت‌آفتمین (به مدت ۴ هفته با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل بالاتر بود (۲۱). در پژوهش دیگری نشان داده شد که بربرین می‌تواند ساختار قلبی و عملکرد سیستمی موش‌های نر با هایپرتروفی بطن چپ را بهبود بخشد (۲۲). بربرین همچنین عملکرد قلب بیماران با نارسایی احتقانی شدید قلب را بهبود بخشیده و با افزایش NO سبب کاهش التهاب شده و یک عامل محافظ در برابر تصلب شرایین است (۱۵). در مطالعه‌ای فعالیت ورزشی، بر سلامت معنادار تأثیر مثبت داشته و از افزایش عوامل ایجادکننده‌ی بیماری‌های قلبی و عروقی جلوگیری می‌نماید (۲۳) و بر طبق گزارش پژوهشی دیگر، ورزش بعنوان یک ورزش بعنوان یک عامل تعدیل‌کننده‌ی رفتار، می‌تواند از استرس اکسیداتیو، سمیت مغزی عروقی و اختلال سدخونی مغزی ناشی از مت‌آفتمین محافظت کند (۲۴). از دلایل ناهمسویی نتایج تحقیقات فوق می‌توان به مدت مصرف مت‌آفتمین، دوز مصرفی متفاوت، جنسیت و یا بافت متفاوت (مغز با قلب) با تحقیق حاضر اشاره کرد.

با توجه به اینکه مطالعات در زمینه بررسی اثر مت‌آفتمین بر بیان CREB در بافت قلب اندک است، مکانیسم‌های مربوط به آن نیز به خوبی شناسایی نشده است. از جمله مکانیسم‌های احتمالی می‌توان اینگونه بیان کرد که CREB یک نقش مهم در اعتیاد به دارو بازی می‌کند (۲۱) و احتمالاً افزایش بیان PKA (که یک کیناز کلیدی برای فسفریلاسیون CREB است)، سبب افزایش بیان CREB می‌شود (۲۱). از آنجایی که مسیر نسخه برداری سیگنال cAMP/PKA/CREB در تنوعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی، پاتولوژیکی و التهابی قلب درگیر است، بنابراین چون بیان CREB در

References

- Amini N, Etemadi-Aleagh A, Akhgari M. Impurity profiling of street methamphetamine samples seized in Kermanshah, Iran with special focus on methamphetamine impurities health hazards. *J Clin Toxicol*. 2015;5(4):1000258.
- Kuroda R, Nakajima M, Nagai H, Maeda H, Kashima J, Saka K, et al. Small focal coagulation necrosis in the myocardium of a young methamphetamine user. *Int J Cardiol*. 2013;164(1):e5-6. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.09.145 pmid: 23058355
- Alghamdi M, Alqahtani B, Alhowti S. Cardiovascular complications among individuals with amphetamine-positive urine drug screening admitted to a tertiary care hospital in Riyadh. *J Saudi Heart Assoc*. 2016;28(3):129-135. doi: 10.1016/j.jsha.2015.12.009 pmid: 27358529
- Rezaeian L, Khaksari M, Rafeaie R, Kalalian Moghaddam H. Neuroprotective Effects of Berberine Hydrochloride on Methamphetamine-induced Cognitive Dysfunction: Immunohistochemical and Behavioral Studies in Rats. *Basic Clin Neurosci*. 2022;13(4):443-453. doi: 10.32598/bcn.2021.1444.2 pmid: 36561238
- Boyd KN, Mailman RB. Dopamine receptor signaling and current and future antipsychotic drugs. *Handb Exp Pharmacol*. 2012(212):53-86. doi: 10.1007/978-3-642-25761-2_3 pmid: 23129328
- Cavallotti C, Mancone M, Bruzzone P, Sabbatini M, Mignini F. Dopamine receptor subtypes in the native human heart. *Heart Vessels*. 2010;25(5):432-437. doi: 10.1007/s00380-009-1224-4 pmid: 20676967
- Yang X, Wang Y, Li Q, Zhong Y, Chen L, Du Y, et al. The Main Molecular Mechanisms Underlying Methamphetamine-Induced Neurotoxicity and Implications for Pharmacological Treatment. *Front Mol Neurosci*. 2018;11:186. doi: 10.3389/fnmol.2018.00186 pmid: 29915529
- Fleckenstein AE, Volz TJ, Riddle EL, Gibb JW, Hanson GR. New insights into the mechanism of action of amphetamines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2007;47:681-698. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.47.120505.105140 pmid: 17209801
- Pugazhenthis S, Wang M, Pham S, Sze CI, Eckman CB. Downregulation of CREB expression in Alzheimer's brain and in Abeta-treated rat hippocampal neurons. *Mol Neurodegener*. 2011;6:60. doi: 10.1186/1750-1326-6-60 pmid: 21854604
- Wu S, Lu Q, Wang Q, Ding Y, Ma Z, Mao X, et al. Binding of FUN14 Domain Containing 1 With Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor in Mitochondria-Associated Endoplasmic Reticulum Membranes Maintains Mitochondrial Dynamics and Function in Hearts in Vivo. *Circulation*. 2017;136(23):2248-2266. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030235 pmid: 28942427
- Chartoff EH, Papadopoulou M, Konradi C, Carlezon WA, Jr. Dopamine-dependent increases in phosphorylation of cAMP response element binding protein (CREB) during precipitated morphine withdrawal in primary cultures of rat striatum. *J Neurochem*. 2003;87(1):107-118. doi: 10.1046/j.1471-4159.2003.01992.x pmid: 12969258
- Fadaei A, Miladi Gorji H, Makvand Hosseini S. Effects of Regular Swimming Exercises on Severity of Naloxone-Precipitated Morphine Withdrawal Signs in Rats. *J Zanzan Univ Med Sci Health Service*. 2013;21(87):54-62.
- O'Dell SJ, Galvez BA, Ball AJ, Marshall JF. Running wheel exercise ameliorates methamphetamine-induced damage to dopamine and serotonin terminals. *Synapse*. 2012;66(1):71-80. doi: 10.1002/syn.20989 pmid: 21953518
- Koohsari M, Shaki F, Jahani D. Protective effects of edaravone against methamphetamine-induced cardiotoxicity. *Brazilian Arch Biol Technol*. 2016;59. doi: 10.1590/1678-4324-2016160093
- Singh AK, Singh SK, Nandi MK, Mishra G, Maurya A, Rai A, et al. Berberine: A Plant-derived Alkaloid with Therapeutic Potential to Combat Alzheimer's disease. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*. 2019;19(3):154-170. doi: 10.2174/1871524919666190820160053 pmid: 31429696
- Daiwile AP, Jayanthi S, Cadet JL. Sex differences in methamphetamine use disorder perused from pre-clinical and clinical studies: Potential therapeutic impacts. *Neurosci Biobehav Rev*. 2022;137:104674. doi: 10.1016/j.neubiorev.2022.104674 pmid: 35452744
- Tokunaga I, Kubo S, Ishigami A, Gotohda T, Kitamura O. Changes in renal function and oxidative damage in methamphetamine-treated rat. *Leg Med (Tokyo)*. 2006;8(1):16-21. doi: 10.1016/j.legalmed.2005.07.003 pmid: 16157497
- Sajadi A, Amiri I, Gharebaghi A, Komaki A, Asadbegi M, Shahidi S, et al. Treadmill exercise alters ecstasy-induced long-term potentiation disruption in the hippocampus of male rats. *Metab Brain Dis*. 2017;32(5):1603-1607. doi: 10.1007/s11011-017-0046-9 pmid: 28612273
- Yamaguchi T, Sumida TS, Nomura S, Satoh M, Higo T, Ito M, et al. Cardiac dopamine D1 receptor triggers ventricular arrhythmia in chronic heart failure. *Nat Commun*. 2020;11(1):4364. doi: 10.1038/s41467-020-18128-x pmid: 32868781
- Hedges DM, Obay JD, Yorgason JT, Jang EY, Weerasekera VK, Uys JD, et al. Methamphetamine Induces Dopamine Release in the Nucleus Accumbens Through a Sigma Receptor-Mediated Pathway. *Neuropsychopharmacology*. 2018;43(6):1405-1414. doi: 10.1038/npp.2017.291 pmid: 29185481
- Nie Q, Dong W, Shen B, Yang G, Yu H, Zhang R, et al. Cannabidiol attenuates methamphetamine-induced cardiac inflammatory response through the PKA/CREB pathway in rats. *Ann Transl Med*. 2022;10(18):985. doi: 10.21037/atm-22-4082 pmid: 36267753
- Kou T, Luo H, Shen Y, Su Y, Yin L. Effects of berberine hydrochloride on left ventricular structure and function in rats with myocardial hypertrophy. *Acta Cardiol*. 2023;78(4):433-441. doi: 10.1080/00015385.2023.2168876 pmid: 36852777
- Ghorbanzadeh B, Ghorbanian B, Yavari Y, Lotfi M, Shamiry M, Razmandi F. Effect of physical activity on Body Mass Index and some physical fitness factors in addicted women. *J Health Promot Manage*. 2017;6(2):43-49. doi: 10.21859/jhpm-06047
- Tully T. Memory in *Drosophila melanogaster*. *Modulat Synaptic Trans Plast Nervous Sys*. 2013;19:401.
- Nosrati Z. The effect of endurance activity associated with berberine hydrochloride supplementation on histopathological changes of heart tissue and aerobic capacity in rats receiving methamphetamine. [In Persian]. [MA Thesis]. Iran: Azad University of Shahrood;2022.