Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of combined training on the expression of Bax and VEGF indices in the cardiac of male rats following chronically exposed to methamphetamine

Hamid Reza Salimi[1], Amir Hosein Haghighi[2*], Shima Ababzadeh[3], Hamid Marefati[4]

1. Phd student of exercise physiology, Faculty of Sports Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.
2. Professor of exercise Physiology Department, Faculty of Sports Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.
3. Associate Professor of Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.
4. Associate Professor of exercise Physiology Department, Faculty of Sports Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.

Abstract

Background and aim: Methamphetamine abuse causes myocardial infarction, stroke, and cardiomyopathy, which is directly related to vascular dysfunction, which sometimes causes the death of users. This study aimed to investigate the effect of combined training (CT) on the expression of Bax and VEGF indices in the cardiac of male rats following chronic methamphetamine use. **Materials and Methods**: 30 rats weighing 200-210 g were randomly divided into three groups: control ,sham (addict), and addict+combined training (ACT). To create dependence, methamphetamine was injected intraperitoneally in increasing doses to the sham and ACT. CT consisted of 6 weeks of running on the treadmill (3 days) and resistance training (3 days) with moderate intensity. After this period, the rats were dissected according to the ethical standards of laboratory animals, and their hearts were removed. 4 hearts from each group were assigned to immunohistochemistry and 6 hearts to gene expression. The immunohistochemical technique was used to investigate Bax and the RT-PCR method was used to investigate VEGF. The research data were analyzed by ANOVA, Bonferroni post hoc test, and SPSS version 26 software. the significance level was considered $P< 0.01$. **Results**: In the sham, compared to the control group, the expression of Bax increased significantly and the expression of VEGF decreased significantly. In the ACT, the expression of Bax was significantly decreased compared to the sham, and the expression of VEGF was significantly increased compared to the sham and control groups. **Conclusion**: The increase in Bax expression and the decrease in VEGF expression indicates an increase in apoptosis, and methamphetamine abuse increased this process, but CT inhibited the apoptosis through the down-regulation of Bax and up-regulation of VEGF.

Keywords: Methamphetamine, Bax, VEGF, Combined training

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

تأثیر تمرین ترکیبی بر بیان شاخص‌های Bax و VEGF در قلب رت‌های نر متعاقب مصرف مزمن مت‌آمفتامین

حمیدرضا سلیمی[۱]، امیرحسین حقیقی[۲]*، شیما آب‌آب زاده[۳]، حمید معرفتی[۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران.
۳. دانشیار گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.
۴. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران.

نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

چکیده

زمینه و هدف: سوء مصرف مت‌آمفتامین موجب انفارکتوس میوکارد، سکته‌ی مغزی و کاردیومیوپاتی شده که مستقیماً با اختلال عملکرد عروقی مرتبط بوده که بعضاً موجب مرگ مصرف‌کنندگان می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی اثر تمرین ترکیبی بر بیان شاخص‌های Bax و VEGF در قلب رت‌های نر متعاقب مصرف مزمن مت‌آمفتامین بود. **روش تحقیق :** تعداد ۳۰ رت با وزن ۲۱۰-۲۰۰ گرم به طور تصادفی در سه گروه شامل کنترل، شم (معتاد) و معتاد+تمرین ترکیبی تقسیم شدند. جهت ایجاد وابستگی، مت‌آمفتامین به گروه‌های شم و ترکیبی و به شکل درون صفاقی تزریق شد. تمرین ترکیبی شامل ۶ هفته دویدن برروی نوارگردان (۳ روز) و تمرین مقاومتی (۳ روز) با شدت متوسط بود. پس از این دوره رت‌ها طبق موازین اخلاقی مربوط به حیوانات آزمایشگاهی تشریح و قلبشان خارج شد. ۴ قلب از هر گروه به بررسی ایمونوهیستوشیمی و ۶ قلب به بررسی بیان ژن اختصاص داده شد. برای بررسی Bax از تکنیک ایمونوهیستوشیمی و برای بررسیVEGF از روش PCR-RT استفاده شد. داده‌های تحقیق با تحلیل واریانس یک‌طرفه، آزمون تعقیبی بونفرونی و با نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۲۶ تجزیه و تحلیل شدند و سطح معنی‌داری P<۰/۰۱ در نظر گرفته شد. **یافته‌ها:** در گروه شم، در مقایسه با گروه کنترل بیان Bax به میزان قابل توجهی افزایش و بیان VEGF به طور معنی‌داری کاهش یافت. در گروه تمرین ترکیبی بیان Bax نسبت به گروه شم کاهش قابل توجهی داشت و بیان VEGF نسبت به دو گروه شم و کنترل افزایش معنی‌داری داشت. **نتیجه‌گیری:** افزایش بیان Bax و کاهش بیان VEGF نشان‌دهنده‌ی افزایش آپوپتوز است که سوء مصرف مت‌آمفتامین موجب افزایش این فرآیند شد، اما تمرین ترکیبی موجب مهار آپوپتوز از طریق تنظیم کاهشی Bax و تنظیم افزایشیVEGF شد.

واژه‌های کلیدی : مت‌آمفتامین، Bax، VEGF، تمرین ترکیبی

[۱]- تلفن تماس: ۰۹۱۲۷۵۳۵۰۲۸ ایمیل : Hrs2918@gmail.com

[۲]- تلفن تماس: ۰۹۱۵۱۷۰۲۸۸۵ ایمیل: haghighi@hsu.ac.ir

[۳]- تلفن تماس: ۰۹۱۶۳۶۵۲۳۱۲ ایمیل: Shimaababzadeh@gmail.com

[۴]- تلفن تماس: ۰۹۱۵۳۸۸۶۲۵۰ ایمیل: h.marefati@hsu.ac.ir

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

مقدمه

آمفتامین‌ها از دسته داروهای روان‌گردان هستند که بعد از حشیش بیش‌ترین مورد استفاده را نزد امریکایی‌ها و اروپایی‌ها دارند (وان[1] و دیگران، ۲۰۱۳). این مواد به دلیل ایجاد شرایط سمّی در بدن اختلالاتی نظیر تاکی‌کاردی، تاکی‌پنه (پر تنفسی)، فشار خون بالا، اتساع مردمک چشم، افزایش دما و کاهش خستگی، اختلال حافظه و کاهش اشتها را ایجاد می‌کنند (راوسون[2] ،۲۰۱۳؛ کورتنی و رِی[3] ۲۰۱۴). مت‌آمفتامین (N-methyl-alpha-methylphenethylamine) یکی از مشتقات بسیار قوی آمفتامین است که اثرات قابل توجهی بر روی شاخص‌های فیزیکی، رفتاری، شناختی و روانی دارد. مت‌آمفتامین یک مولکول کاتیونی و یک ترکیب کایرال[4] است که به دلیل داشتن یک گروه متیل اضافی نسبت به سایر آنالوگ‌های آمفتامین به شدت چربی دوست است، به همین دلیل می‌تواند به طور فزاینده‌ای در سد خونی مغزی نفوذ کند (هامر[5] و دیگران، ۲۰۰۸). اگر چه سرخوشی ایجاد شده از سوء مصرف مت‌آمفتامین در فاز حاد ناشی از افزایش در پیام‌رسانی دوپامین و نوراپی‌نفرین است اما در استفاده‌ی مزمن (طولانی‌مدت) باعث ایجاد سمیت عصبی در پایانه‌های آکسونی دوپامینرژیک می‌شود که با کاهش تولید دوپامین و کاهش بیان ناقل آن همراه است. علاوه بر این، مت‌آمفتامین باعث مرگ سلول‌های عصبی مرتبط با استرس شبکه‌ی آندوپلاسمی، اختلال عملکرد میتوکندری و افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی می‌شود (فلکنستین[6] و دیگران، ۲۰۰۷). مت‌آمفتامین می‌تواند اثرات نامطلوب و بالقوه کشنده‌ای بر شریان‌ها و عروق خونی داشته باشد، از جمله فشار خون بالا، اسپاسم حاد عروق، و آترواسکلروزیس. علاوه بر این، مت‌آمفتامین باعث تغییر ساختاری و الکتریکی بافت قلب می‌شود که منجر به آریتمی و نارسایی قلبی می‌شود. با این حال، مکانیسم‌های حول محور مت‌آمفتامین و بیماری‌های قلبی عروقی و سایر پاسخ-های پاتولوژیک آن در مصرف‌کنندگان آن تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است (هان و گو[7] ۲۰۰۶).

مرگ سلولی ناشی از عوامل استرس‌زا یکی از دلایل ایجاد شرایط پاتولوژیک است. مرگ سلولی در دو مسیر نکروز و آپوپتوز بررسی می‌شود. ایجاد بخش برگشت‌ناپذیر یا همان نکروز در بافتی مثل قلب موجب از بین رفتن همیشگی میوسیت‌ها و مرگ آن‌ها خواهد شد، اما آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده یک فرایند زیستی فعال و برگشت‌پذیر است که در تنظیم تعادل بین رشد و مرگ سلولی در بافت‌های مختلف، به‌ویژه بافت‌های سوماتیک مانند مغز، عضله‌ی اسکلتی و میوکارد نقش اساسی دارد. (فاوالورو[8] و دیگران، ۲۰۱۲). در تنظیم و کنترل فرآیند آپوپتوز عوامل مختلفی مداخله دارند. خانواده‌ی پروتئین Bcl-2 در مسیرهای پیام‌رسانی آپوپتوز نقش دارند. اعضای این خانواده شامل پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک (Bcl-2, Bcl-x, Bcl-b, Mcl-1)و پروتئین‌های پروآپوپتوتیک (Bax, Bad, Bim, Bok, Bid) هستند که از لنفوسیت‌های B مشتق می‌شوند (وارن[9] و دیگران، ۲۰۱۹). در مسیر بیرونی آپوپتوز، پروتئین پروآپوپتوتیک Bid توسط کاسپاز ۸ فعال شده و موجب فعال شدن Bax می‌گردد و آن هم موجب آسیب به میتوکندری می‌شود، در مقابل، اعضای آنتی‌آپوپتوتیک از میتوکندری در برابر حمله‌ی سیستم کاسپازی محافظت می‌نمایند (کالوینو فرناندز[10] و دیگران، ۲۰۱۰). از عواملی که موجب چنین رخدادهایی در سطح سلولی

---

1. Won
2. Rawson
3. Courtney & Ray
4. Chiral
5. Homer
6. Fleckenstein
7. Han & Gu
8. Favaloro
9. Warren
10. Calvino Fernández

می‌شود سوء مصرف مواد افیونی است. چن[1] و دیگران (۲۰۱۶) در تحقیق خود نشان دادندکه سوء مصرف مت‌آمفتامین موجب افزایش بیان Bax و کاسپاز ۳ و کاهش بیان Bcl-2 در سلول‌های عصبی رت‌ها شد.

از فاکتورهایی که در مسیر آپوپتوز بر عوامل ذکر شده و مؤثر بر این فرآیند اثر می‌گذارند انواع سایتوکاین‌ها هستند. این پروتئین‌ها عملکردهای زیادی مانند میانجی‌گری و تنظیم پاسخ‌های ایمنی و التهابی، شکل‌گیری و نمو سلول‌های خونی را در بدن به عهده دارند (تایال و کالرا[2] ۲۰۰۸). فاکتور رشد اندوتلیال عروقی[3](VEGF) یکی از سایتوکاین‌های مؤثر در آپوپتوز است. VEGF از طریق تنظیم افزایشی مؤلفه‌های آنتی‌آپوپتوتیک موجب مهار آپوپتوز می‌گردد و نیز با کمک به سنتز DNA، تخریب غشای پایه و فسفریله کردن اجزاء چسبنده‌ی اندوتلیال بین سلولی به ترتیب موجب بقا، تکثیر، مهاجرت و نفوذپذیری سلول اندوتلیال می‌شود، به همین خاطر آن را عامل اصلی رگ‌زایی می‌دانند (تانگ[4] و دیگران، ۲۰۱۰؛ دیاز[5] و دیگران، ۲۰۰۲). گزارش شده است که Bcl-2 و VEGF هر دو ویژگی آنتی‌آپوپتوتیک دارند که در رگ‌زایی نیز با یک‌دیگر همکاری دارند (احمد و دیگران، ۲۰۱۴).

پیش‌گیری، درمان و کنترل شرایط پاتولوژیک ناشی از مرگ سلولی که خود تحت اثر عوامل بیرونی و درونی مثل پرتوافکنی، ایسکمی- خون‌رسانی مجدد (پرفیوژن)[6] داروهای مختلف، سالخوردگی و فشارهای جسمانی، مکانیکی و متابولیکی ایجاد می‌شود یک ضرورت زیستی و بهداشتی است. در مورد افرادی که مبتلا به سوء مصرف مواد افیونی هستند، گفته می‌شود بالا ماندن میل به مصرف به دنبال یک دوره‌ی طولانی ترک مواد، یک مانع کلیدی برای درمان اعتیاد است (شهیدی و دیگران، ۲۰۱۱) و این مورد احتمالاً یک شاخص مهم برای مصرف‌کنندگان مت‌آمفتامین می‌باشد. با این حال، در حال حاضر هیچ دارویی که مورد تأیید سازمان غذا و داروی ایالات متحده برای درمان اعتیاد به مت‌آمفتامین باشد وجود ندارد. درمان احتمالی برای مصرف‌کنندگان مت‌آمفتامین را رفتار درمانی و مراقبت‌های طولانی مدت ذکر کرده‌اند، هر چند میزان بازگشت به مصرف در مبتلایان همواره بالا باقی می‌ماند (لی و راوسون[7] ۲۰۰۸). بنابراین یافتن یک درمان غیر تهاجمی جهت کمک به بهبود مبتلایان به سوء مصرف مواد افیونی به ویژه مت‌آمفتامین در بین مسیرهای درمانی موجود یک ضرورت پژوهشی و عملیاتی است. یکی از این راه‌های درمان می‌تواند فعالیت ورزشی باشد. اما تحقیقات در مورد شدت و نوع فعالیت، یافته‌های متفاوتی را ارائه کرده‌اند. شهرآبادی و دیگران (۲۰۲۲) در تحقیق خود بیان داشتند که فعالیت دویدن تناوبی شدید برروی نوارگردان موجب کاهش میزان آپوپتوز ناشی از بیان کاسپاز-۳ در قلب رت‌های وابسته به مت‌آمفتامین شد، در حالی‌که یزدان‌پرست و دیگران (۲۰۱۸) در پژوهش خود نشان دادند که فعالیت شدید موجب افزایش سنتز Bax و بیان کاسپاز-۳ و کاهش سنتز Bcl-2 نسبت به گروه کنترل و گروهی که فعالیت متوسط داشتند، شد. در مورد اثر تمرین مقاومتی بر عملکرد قلبی، آلوز[8] و دیگران (۲۰۱۴) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی در موش‌های صحرایی با نارسایی مزمن قلبی موجب بهبود عملکرد قلب و کاهش نسبت حجم کلاژنی بطن چپ شد. صوفی و دیگران (۲۰۱۱) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی میزان انفارکتوس را کاهش داد و محافظت قلبی در برابر آسیب ایسکمی- پرفیوژن را فراهم کرد.

نوع دیگری از فعالیت‌های ورزشی، تمرین ترکیبی (هوازی- مقاومتی) است. در این مورد، صداقت (۲۰۲۱) در پژوهش خود بیان کرد که این نوع تمرین موجب افزایش بیان Bcl-2 و کاهش Bax و بافت فیبروزی در قلب رت‌های دیابتی شد. شیموجو[9] و

---

1. Chen
2. Tayal & Kalra
3. Vascular endothelial growth factor
4. Tang
5. Dias
6. perfusion
7. Lee & Rawson
8. Alves
9. Shimojo

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

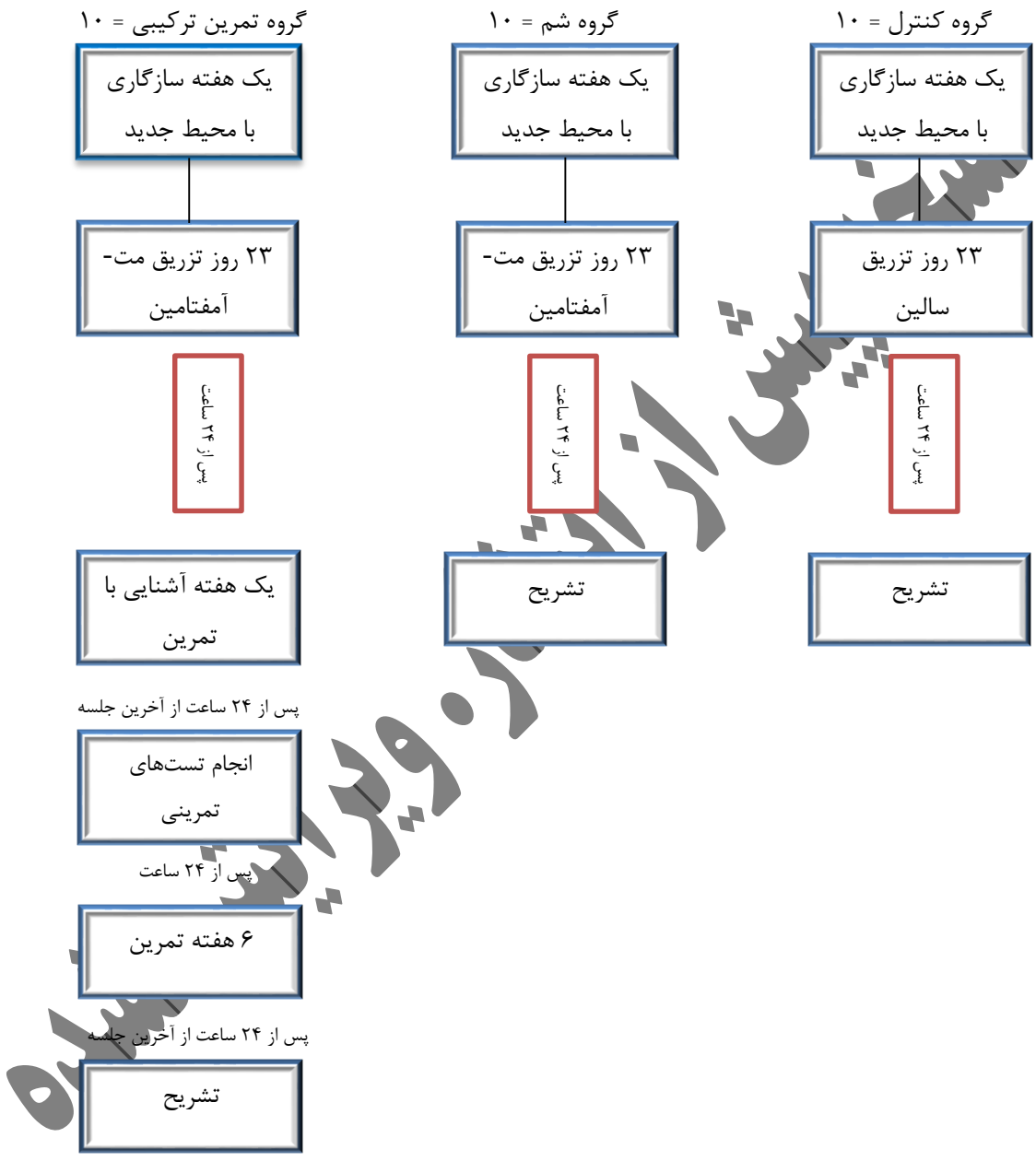
دیگران (۲۰۱۸) بیان داشتند که تمرین ترکیبی موجب کاهش فشار خون متوسط شریانی، ضربان قلب، عوامل التهابی کاردیومیوسیت‌ها نظیرTNF، اینترلوکین-۶ و لیپوپراکسیداسیون کلیوی در زنان یائسه با فشار خون بالا شد. صداقت و دیگران (۲۰۲۰) در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که تمرین ترکیبی موجب کاهش بیان کاسپاز ۳ و ۹ و افزایش بیان Akt در رت‌های دیابتی شده است. با توجه به نتایج گاهاً متناقض پژوهش‌ها در مورد اثر تمرینات ورزشی و با توجه به این‌که در مورد اثر توأم تمرین مقاومتی و هوازی بر عوامل مؤثر بر مرگ سلولی در انسان یا حیوانات وابسته به سوء مصرف مت‌آمفتامین پژوهشی یافت نشد، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تمرین ترکیبی بر بیان شاخص‌های Bax و VEGF در قلب رت‌های نر متعاقب مصرف مزمن مت‌آمفتامین، انجام شد.

روش تحقیق

تحقیق حاضر از نوع تجربی و کاربردی بود که در آن از ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار با سن ۸ هفتگی و وزن ۲۱۰-۲۰۰ گرم جهت بررسی دو عامل مؤثر بر آپوپتوز بافت قلب استفاده شد. رت‌ها از مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی خریداری و در شرایط آزمایشگاهی استاندارد با آب و غذای مناسب، شرایط ریتم طبیعی روشنایی- تاریکی (۱۲:۱۲ ساعت) و در دمای ۲۳±۲ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. گروه‌بندی رت‌ها به صورت تصادفی و با در نظر گرفتن همگنی اوزان در هر گروه انجام شد. تعداد ۱۰ سر رت در گروه کنترل قرار گرفتند که به آن‌ها ۲۳ روز سالین و به صورت درون صفاقی تزریق شد و به ۲۰ رت دیگر به مدت ۲۳ روز مت‌آمفتامین به شکل درون صفاقی تزریق شد. پس از طی این دوره مجدداً با در نظر گرفتن همگنی اوزان و به صورت تصادفی، از ۲۰ رت وابسته به مت‌آمفتامین تعداد ۱۰ رت در گروه شم (معتاد) و تعداد ۱۰ رت در گروه معتاد+تمرین ترکیبی قرار گرفتند. تزریق مت‌آمفتامین طبق برنامه‌ی گرومن[1] و دیگران (۲۰۱۸)، از دوز ۱۰- ۲/۵ میلی-گرم/ کیلوگرم، به صورت افزایشی انجام شد. تمرین استفاده شده در این تحقیق، تمرین ترکیبی (هوازی-مقاومتی) بود. مدت زمان تمرین، ۶ هفته و در هفته ۶ روز بود. تمرین ترکیبی شامل ۳ روز دویدن بر روی نوارگردان و ۳ روز تمرین مقاومتی بر روی نردبان ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی بود که به شکل یک روز درمیان انجام شد. شدت تمرین هوازی ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت و شدت تمرین مقاومتی ۵۰ تا ۶۰ درصد یک تکرار بیشینه‌ی ویژه جوندگان آزمایشگاهی درنظر گرفته شد. قبل از اجرای تمرین اصلی، حیوانات به مدت یک هفته با ابزارهای تمرینی (نوارگردان و نردبان) آشنا شدند. پس از ۲۴ ساعت از دوره‌ی آشنایی با ابزارها برای تعیین شدت تمرین هوازی تست فزاینده‌ی وامانده ساز بر روی نوارگردان گرفته شد و برای تعیین بار اولیه‌ی تمرین مقاومتی از آزمون حداکثر قدرت استفاده شد. خلاصه‌ی روش تحقیق در نمودار ۱ ارائه شده است.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

[1]. Groman



نمودار ۱. خلاصه‌ی روش تحقیق

شرح تست وامانده‌ساز

پس از ۵ تا ۱۰ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ - ۵ متر در دقیقه، سرعت نوارگردان هر ۲ دقیقه ۰/۳ متر در ثانیه افزایش یافت (سرعت اولیه ۱۰ متر بر دقیقه بود و هر ۳ ثانیه به صورت خودکار، ۰/۰۰۷۵ متر در ثانیه بر سرعت افزوده می‌شد) تا جایی‌که حیوان نتوانست به دویدن ادامه دهد (هویدال[1] و دیگران، ۲۰۰۷ ؛ صداقت و دیگران، ۲۰۲۰). در پایان، سرعت نهایی ۲۰ متر در دقیقه بود.

تعیین حداکثر قدرت رت‌ها

جهت تعیین حداکثر قدرت، وزنه‌ای معادل ۷۵٪ وزن رت به دم آن وصل شد. با این مقدار، رت حداکثر ۶ بار به بالای نردبان صعود کرد. پس از ۲ دقیقه استراحت در تکرارهای بعدی ۱۵٪ وزن بدن رت به بار اولیه افزوده شد تا جایی که حیوان دیگر نتوانست وزنه‌ای را جا به جا کند (سانچز[2] و دیگران، ۲۰۱۴). این آزمون در ابتدا و انتهای ۶ هفته تمرین اجرا شد.

شرح پروتکل تمرین هوازی

فعالیت هوازی ۶ هفته، ۳ جلسه در هفته با ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت تعیین شده از ۲۵ دقیقه در هفته‌ی اول تا ۴۰ دقیقه در هفته‌ی ششم طبق جدول ۱، اجرا شد.

جدول ۱. برنامه‌ی ۶ هفته تمرین هوازی

هفته	شدت	مدت
اول	۲۵ دقیقه	٪۵۰ حداکثر سرعت (۱۰ متر در دقیقه)
دوم	۳۰ دقیقه	٪۵۰ حداکثر سرعت (۱۰ متر در دقیقه)
سوم	۳۰ دقیقه	٪۵۵ حداکثر سرعت (۱۱ متر در دقیقه)
چهارم	۳۵ دقیقه	٪۵۵ حداکثر سرعت (۱۱ متر در دقیقه)
پنجم	۳۵ دقیقه	٪۶۰ حداکثر سرعت (۱۲ متر در دقیقه)
ششم	۴۰ دقیقه	٪۶۰ حداکثر سرعت (۱۲ متر در دقیقه)

شرح پروتکل تمرین مقاومتی

این تمرین طبق پروتکل تمرینی استفاده شده در تحقیق سانچز و دیگران، (۲۰۱۸) با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد مقدار وزنه‌ی تعیین شده به مدت ۶ هفته اجرا شد. در این تمرین، حیوان مجموعاً ۱۵ تکرار بالا رفتن از نردبان یک متری را با وزنه‌ای که به دمش بسته شده بود انجام داد. در بین هر تکرار یک دقیقه استراحت در نظر گرفته شد.

استخراج بافت قلب

پس از ۲۴ ساعت از آخرین جلسه‌ی تمرین، ۴ رت برای بررسی Bax با تکنیک ایمونوهیستوشیمی و ۶ رت برای بررسی بیان ژن VEGF به طور تصادفی انتخاب شدند. روش تشریح برای دو تکنیک کاملاً متفاوت بود. برای بررسی ایمونوهیستوشیمی قبل از تشریح می‌بایست محلول‌های پارافرمالدئید[3] بافر شده، فرمالین[4] سرم فیزیولوژیک و ست سرم تهیه و آماده‌سازی می‌شد. پس از آماده‌سازی مواد مورد نیاز، حیوان را با کتامین- زایلزین با نسبت ۱۰۰ به ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم بی هوش کرده سپس، آن را

[1]. Høydal
[2]. Sanches
[3]. Paraformaldehyde
[4]. Formalin

زیر هود به پشت خوابانده و دست و پاهایش را کشیده و به حالت صلیبی با وسایلی مثل سوزن روی تخته‌ی شیب‌دار قرار دادیم، طوری‌که سر حیوان رو به پایین قرار گرفت. هدف از این شکل قرارگیری این بود که جریان مایعات به سمت مغز باشد. در این زمان با برشی در خط وسط تا حدود ۱ سانتی‌متر پایین‌تر از زائده‌ی گزیفوئید استرنوم[1] قفسه‌ی سینه باز شد. سپس از رأس قلب ۰/۱ سی‌سی هپارین و ۰/۱ سی‌سی نیترات سدیم ۱٪ به درون بطن چپ تزریق گردید. سپس با کنار زدن ریه‌ی چپ، کانول مربوط به سیستم پرفیوژن را از رأس قلب وارد بطن چپ نموده و همزمان با برقرار کردن جریان نرمال سالین به بطن چپ، دهلیز راست جهت خروج خون شکاف داده شد. سرم فیزیولوژیک از طریق ست اتصالی به میزان ۲۰۰ – ۱۵۰ سی‌سی جهت شستشوی رگ‌ها وارد بدن حیوان شد. این کار تا شفاف شدن مایع خروجی از دهلیز راست و سفید شدن دست و پای حیوان ادامه یافت. سپس محلول پارافرمالدئید ۴٪ حل شده در بافر فسفات ۰/۱ مولار در حجم ۳۵۰ – ۲۵۰ سی‌سی از رگ‌ها عبور داده شد. معمولاً با ورود اولین قطرات محلول در عضلات حیوان انقباضاتی دیده می‌شود. این مرحله تا سفت شدن کامل بدن حیوان ادامه یافت. در نهایت پس از سفت شدن کامل بدن حیوان، شکم آن را کاملاً باز کرده و قلب از بدن خارج و در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد.

برای بررسی ژنی، تشریح حیوان پس از بی‌هوشی، بدون انجام این مراحل و با رعایت شرایط استریل انجام شد. پس از بافت برداری، قلب در تانک ازت منجمد شده و بلافاصله به یخچال ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل گردید.

بررسی ایمونوهیستوشیمی Bax

ارزیابی Bax برای بررسی فرایند آپوپتوز بافت قلب انجام شد. برای این منظور از تکنیک ایمونوهیستوشیمی استاده شد. تکنیک ایمونوهیستوشیمی فرآیند شناسایی انتخابی آنتی‌ژن‌ها یا همان پروتئین‌های داخل سلول‌های بافت با استفاده از آنتی‌بادی‌هایی است که به طور اختصاصی به آنتی‌ژن‌های سلول‌ها در بافت متصل می‌شوند. در این روش پس از قالب‌گیری نمونه‌ها و قرار دادن آن‌ها بر روی لام‌های سیلانه برای این‌که تغییرات بافتی ایجاد شده بر روی بافت قلب بررسی شود، نمونه‌ها به روش رنگ-آمیزی ایمونوهیستوشیمی طبق پروتکل شرکت Abcam انگلستان رنگ‌آمیزی شدند. در این تحقیق از Bax [E63] با کد ab32503 ساخت شرکت Abcam انگلستان استفاده شد.

بررسی بیان ژن VEGF با استفاده از روش PCR-RT

سنجش VEGF برای بررسی فرآیند آپوپتوز بافت قلب انجام شد. برای این منظور ۵۰ میلی‌گرم بافت قلب با دستگاه هموژنایزر به طور کامل هموژن شده و با استفاده از محلول ترایزول (یکتا تجهیز آزما، ایران) کاملاً لیز (حل) شد. براساس دستورالعمل کیت، جهت استخراج RNA از کلروفرم و ایزوپروپانول و برای شست‌وشوی آن از اتانول ۷۵ درصد استفاده شد. کمیت RNAاستخراج شده با طول موج‌های ۲۶۰/۲۳۰ و ۲۶۰/۲۸۰ با استفاده از دستگاه نانودراپ (Nano Drop One, Thermo Scientific, USA) ارزیابی شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (با حساسیت ۱تا ۵ میکروگرم) (یکتا تجهیز آزما، ایران) انجام شد.

به منظور اندازه‌گیری سطح بیان ژن VEGF، از روش Real Time-PCR (qRT-PCR)، با کمک آنزیم Real Q Plus 2 × Master Mix Green (یکتا تجهیز آزما، ایران) و دستگاه Real Time-PCR مدل Rotor-Gene ساخت شرکت Applied Biosystems کشور امریکا استفاده شد. پروتکل به صورت دمایی واسرشته‌سازی اولیه در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و سپس ۴۰ چرخه‌ی متوالی واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت۱۰ ثانیه، ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه انجام پذیرفت. توالی پرایمرها (آغازگرها) با استفاده از نرم‌افزار NCBI طراحی شد. هم-چنین از ژن بتا-اکتین به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد (جدول ۲). پرایمرها به صورت اتصال اگزون- اگزون طراحی شدند. منحنی تکثیر هر واکنش PCR با منحنی تکثیر ژن مرجع بتا اکتین مربوطه نرمال‌سازی شد. در نهایت، زمانی که نمونه-

[1]. Xiphoid Sternum

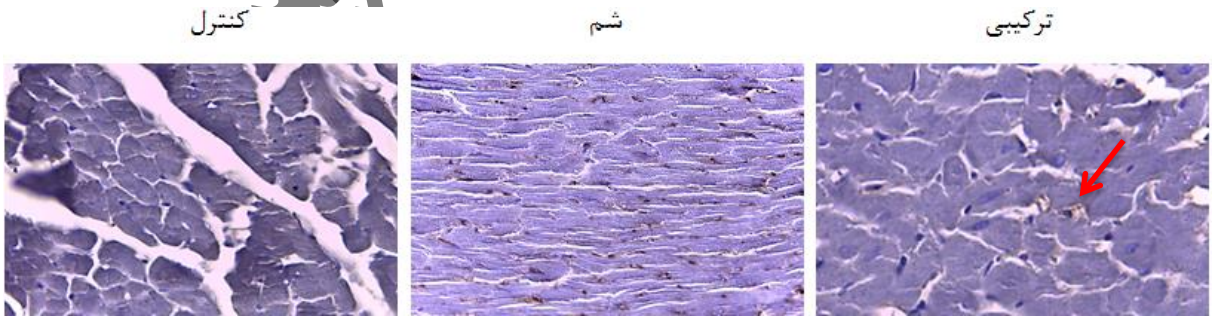
های کنترل محاسبه شدند، تفاوت CT از نمونه‌های VEGF به دست آمد و نسبت ژن هدف به ژن مرجع با فرمول $۲^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد. تمامی داده‌های بررسی بیان ژن با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ آنالیز شده و به صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شدند. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون شاپیرو- ویلک و برای مقایسه‌ی تفاوت بین گروهی از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی‌داری P< ۰/۰۱ استفاده شد. نمودارها با کمک نرم افزار Excel ترسیم شدند.

جدول ۲. توالی پرایمرهای ژنی در قلب رت‌ها

ژن	نوع پرایمر	توالی پرایمر	Tm (°C) (دمای آنلینگ)
VEGF	F	5′-AGAGATGAGCTTCCTACAGCAC -3′	۵۴
VEGF	R	5′-CGCCTCGGCTTGTCACAT -3′	
β-Actin	F	5′-AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT -3′	۵۸
β-Actin	R	5′-CACCATTGGCAATGAGCGGTTC-3′	

یافته‌ها

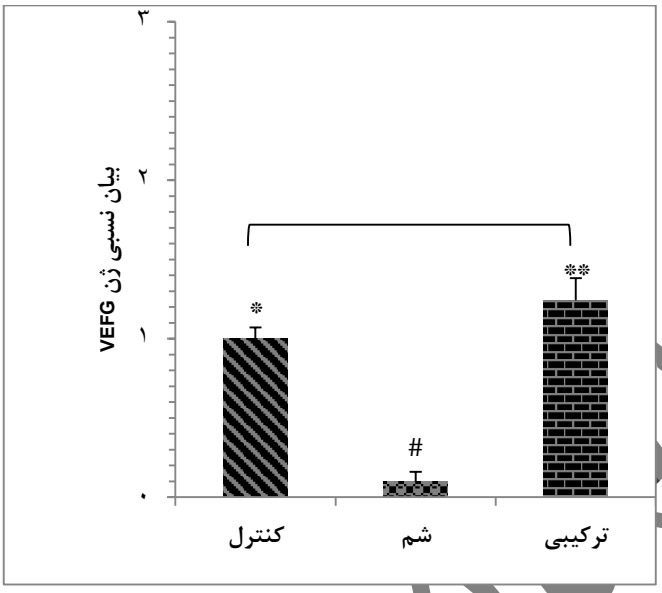
نتایج حاصل از تکنیک ایمونوهیستوشیمی جهت بررسی میزان بیان Bax نشان داد، تزریق صفاقی مت‌آمفتامین (گروه شم) به میزان قابل توجهی موجب افزایش بیان Bax شد. از سوی دیگر میزان بیان این پروتئین در گروه تمرین ترکیبی نسبت به گروه شم کاهش قابل توجهی داشت (شکل ۱). رنگ‌دانه‌های قهوه‌ای موجود در شکل ۱، نشان دهنده‌ی میزان بیان Bax هستند. در گروه کنترل هیچ میزانی از بیان این پروتئین مشاهده نشد. اما در گروه شم میزان بالایی از بیان Bax مشاهده گردید. در گروه تمرین ترکیبی تنها در یک نقطه، آثاری از بیان Bax مشاهده شد که با فلش قرمز رنگ مشخص شده است.



شکل ۱. میزان بیان Bax تحت اثر مت‌آمفتامین و تمرین ترکیبی

در مورد تغییرات بیان ژن VEGF نتایج تحلیل آماری نشان داد دو گروه شم و تمرین ترکیبی با گروه کنترل در میزان بیان این ژن تفاوت معنی‌داری داشتند. بررسی‌های آماری نشان داد که تزریق مت‌آمفتامین (در گروه شم) موجب کاهش معنی‌دار بیان VEGF (۰/۰±۰۹/۰۶)، ($P < ۰/۰۰۰۱$، $F_{(۲ و ۱۵)} = ۲۳۰/۹$) نسبت به گروه‌های کنترل (۰±۱/۰۷) و ترکیبی (۱/۰±۲۴/۱۳) شد.

همین‌طور نشان داده شد که در گروه تمرین ترکیبی، بیان این ژن نسبت به گروه کنترل (P < ۰/۰۰۱) و گروه شم (P < ۰/۰۰۰۱) افزایش معنی‌داری داشت (شکل ۲).



شکل ۲. نمودار تغییرات بین گروهی بیان ژن VEGF. * نشانه‌ی تفاوت معنی دار بین دو گروه شم و ترکیبی با گروه کنترل؛ ** نشانه‌ی افزایش معنی دار بیان ژن VEGF؛ # نشانه‌ی کاهش معنی‌دار بیان ژن VEGF.

بحث

بررسی ایمونوهیستوشیمی نشان داد در گروه شم نسبت به دو گروه کنترل و تمرین ترکیبی، بیان Bax به میزان قابل توجهی افزایش و در گروه ترکیبی نسبت به گروه شم بیان این پروتئین به میزان قابل توجهی کاهش یافت. تحقیق شهرآبادی و دیگران (۲۰۲۲) نشان داد که مصرف مزمن مت‌آمفتامین موجب افزایش کاسپاز ۳ و کاهش ملوسین، FAK[1] و IQGAP1[2] در بطن چپ رت‌های وابسته به مت‌آمفتامین شد. عبدالله[3] و دیگران (۲۰۲۰) در پژوهش خود نتیجه گرفتند که مت‌آمفتامین در موش‌ها موجب بروز علائم کاردیومیوپاتی از جمله آسیب سلولی، فیبروز و هایپرتروفی پاتولوژیک قلب، اختلال عملکرد میتوکندری و عملکرد انقباضی شد. در مورد چگونگی ایجاد آپوپتوز از طریق پروتئین Bax گفته شده است که یک عامل استرسی موجب جا-به‌جایی پروتئین Bax از بیرون غشای خارجی به درون غشای خارجی میتوکندری شده و موجب رهاسازی سیتوکروم c به درون غشای داخلی میتوکندری می‌گردد و این عامل به همراه کاسپاز ۹ و Apaf-1 موجب تشکیل آپوپتوزوم شده و Bcl-2 را می‌شکافند و با همراهی تعداد دیگری از کاسپازها، آپوپتوز را راه‌اندازی می‌کنند (کالوینو فرناندز[4] و دیگران، ۲۰۱۰؛ کندراتسکی[5] و دیگران، ۲۰۱۵).

در این تحقیق نشان داده شد که بیان VEGF در گروه شم به طور معنی‌داری کاهش یافت. در مقابل، تمرین ترکیبی موجب افزایش معنی‌دار بیان این ژن شد. کاردیومیوسیت‌ها منبع تولید VEGF هستند. VEGF تنظیم کننده‌ی اصلی نفوذپذیری در عروق و رگ‌زایی است. در مدل حیوانی، حذف VEGF موجب تغییر در واسکولوژنز و آنژیوژنز و ایجاد دیواره‌ی بطنی نازک‌تر می‌شود. در موش‌هایی که در آن‌ها ایزوفرم‌هایی از VEGF حذف شده بود، اختلال در رگ‌زایی همراه با کاردیومیوپاتی و

---

1. focal adhesion kinase
2. IQ-motif-containing GTPase activating protein 1
3. Abdullah
4. Calvino Fernández
5. Kondratskyi

نارسایی قلبی را نشان دادند (آبراهام[1] و دیگران، ۲۰۰۰). عوامل مؤثر در تنظیم مثبت بیان VEGF شامل؛ HIF1-α، TGF-β، NFKB، اندوتلین-۱ (بریل[2] و دیگران، ۲۰۲۰)، ایسکمی (آبراهام و دیگران، ۲۰۰۰) و فعالیت ورزشی می‌باشند (ارکات[3] و دیگران، ۲۰۱۴). از نظر دیاز و دیگران (۲۰۰۲) و احمد و دیگران (۲۰۱۴) VEGF از طریق افزایش بیان Bcl-2 که یک عامل آنتی‌آپوپتوز محسوب می‌شود، موجب مهار آپوپتوز می‌گردد.

صداقت (۲۰۲۱) در تحقیق خود گزارش کرد که تمرین ترکیبی موجب کاهش بیان Bax و افزایش بیان Bcl-2 در قلب رت‌های دیابتی شد. ارکات و دیگران (۲۰۱۴) در تحقیق خود گزارش کردند که دویدن روی نوارگردان موجب افزایش بیان VEGF در قلب رت‌های دیابتی شد. آرانی[4] و دیگران (۲۰۰۸) در تحقیق خود گزارش کردند که فعالیت ورزشی موجب افزایش Ca^{+2}، AMPK و cAMP می‌شود که این‌ها به نوبه‌ی خود موجب تنظیم افزایشی PGC-1α می‌گردند. PGC-1α یک هم‌فعال‌کننده‌ی چندکاره است که در یک مسیر موجب افزایش MEF2[5] (فاکتور-۲ افزایش‌دهنده‌ی میوسیت‌ها) و در مسیری دیگر موجب افزایش ERR-α[6] (گیرنده‌ی آلفای مرتبط با استروژن) می‌شود. یکی از اعمال ERR، تنظیم افزایشی VEGF است. تریفونوس[7] و دیگران (۲۰۲۱) نیز در تحقیق خود بیان کردند که دو نوع تمرین تناوبی شدید و تمرین ترکیبی موجب افزایش بیان VEGF در عضلات اسکلتی مردان مبتلا به نارسایی مزمن قلبی شد اما بین دو روش تمرینی تفاوت معنی‌داری مشاهده نکردند. دوو - ژیائوچن[8] و دیگران (۲۰۲۱) اثر سه روش تمرین مقاومتی با شدت کم، شدت بالا و با محدودیت جریان خون را بر بیان VEGF بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که بیان VEGF در گروه با شدت کم نسبت به قبل از تمرین تغییر معنی‌داری نداشت اما در دو گروه دیگر افزایش معنی‌داری داشت. در دو گروه با شدت بالا و با محدودیت جریان خون بیان VEGF بالاتر از گروه با شدت کم بود. بین دو گروه با شدت بالا و محدودیت جریان خون تفاوت معنی‌داری گزارش نشد. در این پژوهش، افزایش بیان VEGF احتمالاً به دلیل بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از فعالیت ورزشی بوده است، چرا که شفیعی و دیگران (۲۰۲۲) گزارش کردند که تمرین هوازی اینتروال با شدت متوسط ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی را در هیپوکامپ رت‌های وابسته به مت-آمفتامین افزایش داد.

بهبود عملکرد سیستم ایمنی تابع افزایش جریان خون [افزایش برون‌ده قلبی] است که خود، تحت تأثیر فعالیت ورزشی است، چرا که هنگام فعالیت ورزشی، تقاضای خون در بافت‌های عضلانی افزایش می‌یابد و همین امر، کار قلب را بیشتر می‌کند. افزایش جریان خون ناشی از فعالیت ورزشی از یک سو موجب افزایش تنش برشی در اندوتلیوم عروقی و سنتز NO شده (فرارا و کربل[9] ۲۰۰۵؛ اگینتون[10] و دیگران، ۲۰۰۱) که موجب اتساع عروقی و تسهیل جریان خون می‌گردد و از سوی دیگر موجب کاهش عوامل التهابی مانند سایتوکاین‌های التهابی، مولکول‌های چسبان، مونوسیت ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها می‌گردد (دینگ[11] و دیگران، ۲۰۰۵). همه‌ی این عوامل در کنار هم موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی بدن در اثر سازگاری به فعالیت ورزشی می‌شوند. نتیجه‌ی این تحقیق با نتایج تحقیقات صداقت (۲۰۲۱)، شهرآبادی و دیگران (۲۰۲۲)، تریفونوس و دیگران (۲۰۲۱) و ارکات و دیگران (۲۰۱۴) در مورد اثر فعالیت ورزشی بر تنظیم کاهشی عوامل پروآپوپتوز و تنظیم افزایش عوامل آنتی‌آپوپتوز هم‌سو است، اما بررسی اثر شدت‌های مختلف فعالیت‌های ورزشی بر آپوپتوز نیازمند تحقیقات بیشتری است چرا که در این

---

1. Abraham
2. Braile
3. Erekat
4. Arany
5. myocyte enhancer factor-2
6. estrogen-related receptor-α
7. Tryfonos
8. Du Xiao chen
9. Ferrara & Kerbel
10. Egginton
11. Ding

نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

زمینه نظرات متناقضی ارائه شده است به طور مثال یزدان‌پرست و دیگران (۲۰۱۸) در پژوهش خود نشان دادند که فعالیت شدید موجب افزایش سنتز Bax و بیان کاسپاز-۳ و کاهش سنتز Bcl-2 نسبت به گروه کنترل و گروهی که فعالیت متوسط داشتند، شد در صورتی که شهرآبادی و دیگران (۲۰۲۲) در تحقیق خود بیان داشتند که فعالیت دویدن تناوبی شدید برروی نوارگردان موجب کاهش بیان کاسپاز ۳ در قلب رت‌های وابسته به مت‌آمفتامین شد و از سوی دیگر شفیعی و دیگران (۲۰۲۲) اثر دویدن تناوبی با شدت متوسط بر افزایش کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش بیان آلفا-سینکولین بر مغز رت‌های وابسته به مت‌آمفتامین را گزارش کردند.

نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد که مصرف طولانی مدت و مکرر مت‌آمفتامین موجب افزایش بیان Bax می‌گردد که این عامل از طریق اختلال در عملکرد میتوکندریایی موجب افزایش گونه‌های اکسیژن واکنشی و راه اندازی آبشار کاسپازی و در نهایت مرگ کاردیومیوسیت‌ها می‌شود. همین طور این ماده‌ی افیونی موجب کاهش بیان VEGF که از آن به عنوان یک عامل آنتی‌آپوپتوز یاد می‌شود (احمد و دیگران، ۲۰۱۴) شد. در مقابل، تمرین ترکیبی موجب کاهش بیان Bax و افزایش بیانVEGF که عاملی مؤثر بر افزایش بیان Bcl-2 و عامل اصلی رگ‌زایی است شد. Bcl-2 یک عامل مهاری بر فرآیند آپوپتوز است و رگ‌زایی موجب افزایش سطح مقطع مویرگی و به تبع آن افزایش خون‌رسانی و اکسیژن در کاردیومیوسیت‌ها و سایر بافت‌ها می‌شود.

تعارض منافع

در این پژوهش نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی نداشتند.

قدردانی و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری فیزیولوژی ورزش می‌باشد. از کلیه‌ی اساتید و پرسنل محترم دانشگاه علوم پزشکی قم و اساتید محترم دانشگاه حکیم سبزواری که در این اثر پژوهشی مشارکت داشتند تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

Abdullah, C. S., Aishwarya, R., Alam, S., Morshed, M., Remex, N. S., Nitu, S., ... & Bhuiyan, M. S. (2020). Methamphetamine induces cardiomyopathy by Sigmar1 inhibition-dependent impairment of mitochondrial dynamics and function. *Communications biology*, *3*(1), 682.

Abraham, D., Hofbauer, R., Schafer, R., Blumer, R., Paulus, P., Miksovsky, A., ... & Aharinejad, S. (2000). Selective downregulation of VEGF-A165, VEGF-R1, and decreased capillary density in patients with dilative but not ischemic cardiomyopathy. *Circulation research*, *87*(8), 644-647.

Ahmed, M. B., Nabih, E. S., Louka, M. L., Abdel Motaleb, F. I., El Sayed, M. A., & Elwakiel, H. M. (2014). Evaluation of nestin in lung adenocarcinoma: relation to VEGF and Bcl-2. *Biomarkers*, *19*(1), 29-33.

Alves, J. P., Nunes, R. B., Stefani, G. P., & Dal Lago, P. (2014). Resistance training improves hemodynamic function, collagen deposition and inflammatory profiles: experimental model of heart failure. *PloS one*, *9*(10), e110317.

Arany, Z., Foo, S. Y., Ma, Y., Ruas, J. L., Bommi-Reddy, A., Girnun, G., ... & Spiegelman, B. M. (2008). HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1α. *Nature*, *451*(7181), 1008-1012.

Braile, M., Marcella, S., Cristinziano, L., Galdiero, M. R., Modestino, L., Ferrara, A. L., ... & Loffredo, S. (2020). VEGF-A in cardiomyocytes and heart diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(15), 5294.

Courtney, K. E., & Ray, L. A. (2014). Methamphetamine: an update on epidemiology, pharmacology, clinical phenomenology, and treatment literature. *Drug and alcohol dependence*, *143*, 11-21.

Dias, S., Shmelkov, S. V., Lam, G., & Rafii, S. (2002). VEGF165 promotes survival of leukemic cells by Hsp90-mediated induction of Bcl-2 expression and apoptosis inhibition. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *99*(7), 2532-2540.

Du, X., Chen, W., Zhan, N., Bian, X., & Yu, W. (2021). The effects of low-intensity resistance training with or without blood flow restriction on serum BDNF, VEGF and perception in patients with post-stroke depression. *Neuroendocrinology Letters*, *42*(4), 229-235.

Erekat, N. S., Al-Jarrah, M. D., & Al Khatib, A. J. (2014). Treadmill exercise training improves vascular endothelial growth factor expression in the cardiac muscle of type I diabetic rats. *Cardiology research*, *5*(1), 23.

Favaloro, B., Allocati, N., Graziano, V., Di Ilio, C., & De Laurenzi, V. (2012). Role of apoptosis in disease. *Aging (Albany NY)*, *4*(5), 330.

Ferrara, N., & Kerbel, R. S. (2005). Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*, *438*(7070), 967-974.

Fleckenstein, A. E., Volz, T. J., Riddle, E. L., Gibb, J. W., & Hanson, G. R. (2007). New insights into the mechanism of action of amphetamines. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, *47*, 681-698.

Groman, S. M., Rich, K. M., Smith, N. J., Lee, D., & Taylor, J. R. (2018). Chronic exposure to methamphetamine disrupts reinforcement-based decision making in rats. *Neuropsychopharmacology*, *43*(4), 770-780.

Han, D. D., & Gu, H. H. (2006). Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs. *BMC pharmacology*, *6*(1), 1-7.

Hang, X., Zhao, L., Wu, B., Li, S., Liu, P., Xu, J., ... & Liu, Y. (2022). BCL-2 isoform β promotes angiogenesis by TRiC-mediated upregulation of VEGF-A in lymphoma. *Oncogene*, *41*(28), 3655-3663.

Homer, B. D., Solomon, T. M., Moeller, R. W., Mascia, A., DeRaleau, L., & Halkitis, P. N. (2008). Methamphetamine abuse and impairment of social functioning: a review of the underlying neurophysiological causes and behavioral implications. *Psychological bulletin*, *134*(2), 301.

Høydal, M. A., Wisløff, U., Kemi, O. J., & Ellingsen, Ø. (2007). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*, *14*(6), 753-760.

Kondratskyi, A., Kondratska, K., Skryma, R., & Prevarskaya, N. (2015). Ion channels in the regulation of apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, *1848*(10), 2532-2546.

Lee, N. K., & Rawson, R. A. (2008). A systematic review of cognitive and behavioural therapies for methamphetamine dependence. *Drug and alcohol review*, *27*(3), 309-317.

Rawson, R. A. (2013). Current research on the epidemiology, medical and psychiatric effects, and treatment of methamphetamine use. *Journal of food and drug analysis*, *21*(4), S77-S81.

Sanches, I. C., Conti, F. F., Sartori, M., Irigoyen, M. C., & De Angelis, K. (2013). Standardization of resistance exercise training: effects in diabetic ovariectomized rats. *International journal of sports medicine*, 323-329.

Sedaghat, M. (2021). Cardiac remodeling, apoptosis-related process (Bax, Bcl-2), and their ratio (Bax/Bcl-2) in cardiomyocytes of diabetic rats after combined exercise training and taurine supplementation. Comparative Clinical Pathology, 30(5), 801-810.

Sedaghat, M., Choobineh, S., & Ravasi, A. A. (2020). Taurine with combined aerobic and resistance exercise training alleviates myocardium apoptosis in STZ-induced diabetes rats via Akt signaling pathway. Life sciences, 258, 118225.

Shafiei, A., Haghighi, A. H., Askari, R., Keyhani, A., Nabavizadeh, M. S., & Asadi-Shekaari, M. (2022). Effects of Moderate-Intensity Interval Training on Gene Expression and Antioxidant Status in the Hippocampus of Methamphetamine-Dependent Rats. Neurotoxicity Research, 40(5), 1455-1463.

Shahidi, S., & Hasanein, P. (2011). Behavioral effects of fatty acid amide hydrolase inhibition on morphine withdrawal symptoms. Brain research bulletin, 86(1-2), 118-122.

Shahrabadi, H., Haghighi, A. H., Askari, R., Asadi-Shekaari, M., Souza, D. C., & Gentil, P. (2022). Effect of High-Intensity Interval Training on Cardiac Apoptosis Markers in Methamphetamine-Dependent Rats. Current Issues in Molecular Biology, 44(7), 3030-3038.

Shimojo, G. L., Silva Dias, D. D., Malfitano, C., Sanches, I. C., Llesuy, S., Ulloa, L., ... & De Angelis, K. (2018). Combined aerobic and resistance exercise training improve hypertension associated with menopause. *Frontiers in physiology*, *9*, 1471.

Soufi, F. G., Saber, M. M., Ghiassie, R., & Alipour, M. (2011). Role of 12-week resistance training in preserving the heart against ischemia-reperfusion-induced injury. *Cardiology journal*, *18*(2), 140-145.

Tang, J. Y., Li, S., Li, Z. H., Zhang, Z. J., Hu, G., Cheang, L. C. V., ... & Lee, S. M. Y. (2010). Calycosin promotes angiogenesis involving estrogen receptor and mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway in zebrafish and HUVEC. *PloS one*, *5*(7), e11822.

Tayal, V., & Kalra, B. S. (2008). Cytokines and anti-cytokines as therapeutics—An update. *European journal of pharmacology*, *579*(1-3), 1-12.

Teijido, O., & Dejean, L. (2010). Upregulation of Bcl2 inhibits apoptosis-driven BAX insertion but favors BAX relocalization in mitochondria. *FEBS letters*, *584*(15), 3305-3310.

Tryfonos, A., Tzanis, G., Pitsolis, T., Karatzanos, E., Koutsilieris, M., Nanas, S., & Philippou, A. (2021). Exercise training enhances angiogenesis-related gene responses in skeletal muscle of patients with chronic heart failure. *Cells*, *10*(8), 1915.

Warren, C. F., Wong-Brown, M. W., & Bowden, N. A. (2019). BCL-2 family isoforms in apoptosis and cancer. *Cell death & disease*, *10*(3), 177.

Won, S., Hong, R. A., Shohet, R. V., Seto, T. B., & Parikh, N. I. (2013). Methamphetamine-associated cardiomyopathy. *Clinical cardiology*, *36*(12), 737-742.

Zhang, Y., Yang, H., Barnie, P. A., Yang, P., Su, Z., Chen, J., ... & Xu, H. (2014). The expression of Toll-like receptor 8 and its relationship with VEGF and Bcl-2 in cervical cancer. *International journal of medical sciences*, *11*(6), 608.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده