

The effect of moderate intensity continuous training on *C/EBPβ* and *mTOR* gene expression related to autophagy in the frontal cortex of methamphetamine-dependent rats

Fakhreddin Izadimanesh¹, Amir Hossein Haghighi^{2*}, Seyed Alireza Hosseini Kakhk³, Majid Asadi- shekaari⁴, Hamid Marefati⁵

1. Ph.D Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.
2. Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.
3. Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
4. Professor at Neuroscience Research Center, Neuropharmacology Institute, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
5. Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.

Abstract


Background and Aim: Autophagy is a protected lysosome-dependent cellular degradation process that helps maintain homeostasis and metabolic adaptation of the cell. The aim of the present study was to investigate the effect of moderate intensity continuous training on the expression of *C/EBPβ* and *mTOR* genes related to autophagy in the frontal cortex of methamphetamine-dependent rats. **Materials and Methods:** Thirty two male Wistar rats were randomly divided into four equal groups (n=8) of saline, primary methamphetamine, secondary methamphetamine, and methamphetamine-training. Methamphetamine was injected in the amount of five mg/kg for 21 days. The exhausted endurance test and the average maximum speed of the rats were calculated in order to design the training program as it included 24 minutes of running with an intensity of 60-65% of the maximum speed on the treadmill for eight weeks (five sessions per week). At the end, to evaluate gene expression changes, *C/EBPβ-mTOR* indices were extracted from the frontal cortex tissue of the rats. The results were extracted using one-way analysis of variance at a significance level of $p \leq 0.05$. **Results:** Methamphetamine injection in the primary and secondary methamphetamine groups indicated a significant increase in *C/EBPβ* gene expression compared to the saline group ($p=0.001$ and $p=0.005$, respectively), but in the group early methamphetamine showed a significant decrease in *mTOR* gene expression compared to the saline group ($p=0.04$). Moreover, moderate intensity continuous training in the methamphetamine-exercise group indicated a significant decrease in *C/EBPβ* gene expression compared to the primary methamphetamine group ($p=0.04$), but as compared to the primary and secondary methamphetamine groups showed significantly increased *mTOR* gene expression. **Conclusion:** Methamphetamine injection could probably increases the expression of *C/EBPβ* autophagic gene in the frontal cortex of the brain; while continuous exercises with moderate intensity, as a preventive strategy, can moderate and regulate autophagy caused by methamphetamine, through increasing *mTOR* gene expression in the brain.

Keywords: Continuous training, Expression of autophagy genes, Methamphetamine, Frontal cortex.

Cite this article:

Izadimanesh, F., Haghighi, A.H., Hosseini Kakhk, S.A., Asadi- shekaari, M., & Marefati, H. (2024). The effect of moderate intensity continuous training on *C/EBPβ* and *mTOR* gene expression related to autophagy in the frontal cortex of methamphetamine-dependent rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 12(31), 8-19.

* Corresponding Author, Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran;
E mail: ah.haghighi@hsu.ac.ir

 <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2024.6397.1795>

تأثیر تمرین تداومی با شدت متوسط بر بیان ژن های $C/EBP\beta$ و $mTOR$ مرتبط با اتوفازای در قشر پیشانی موش های صحرائی وابسته به HTME

فخرالدین ایزدی منش^۱، امیرحسین حقیقی^{۲*}، سید علیرضا حسینی کاخک^۳، مجید اسدی شکاری^۴، حمید معرفتی^۵

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران.
۳. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۴. استاد مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده نورو فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.
۵. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: اتوفازای، یک فرآیند تخریب وابسته به لیزوزوم حفاظت شده است که به حفظ هموستاز و سازگاری متابولیکی سلول کمک می کند. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین تداومی با شدت متوسط بر بیان ژن های $mTOR$ و $C/EBP\beta$ مرتبط با اتوفازای، در قشر پیشانی موش های صحرائی وابسته به HTME بود. **روش تحقیق:** تعداد ۳۲ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار، به طور تصادفی به چهار گروه مساوی (n=8) سالین، HTME اولیه، HTME ثانویه، و HTME - تمرین تقسیم شدند. HTME به مقدار پنج میلی گرم/کیلوگرم به مدت ۲۱ روز تزریق شد. آزمون وامانده ساز و میانگین سرعت بیشینه موش ها برای طراحی برنامه تمرین محاسبه و برنامه تمرین شامل ۲۴ دقیقه دویدن با شدت ۶۵-۶۰ درصد سرعت بیشینه بر روی نوارگردان، به مدت هشت هفته (پنج جلسه در هفته) انجام شد. در پایان، برای ارزیابی تغییرات بیان ژنی شاخص های $mTOR$ و $C/EBP\beta$ ، بافت قشر پیشانی موش های صحرائی استخراج شد. نتایج با استفاده از روش تحلیل واریانس یک راهه در سطح معنی داری $p \leq 0/05$ استخراج گردید. **یافته ها:** تزریق مت آمفتامین در گروه های مت آمفتامین اولیه و ثانویه، منجر به افزایش معنی دار بیان ژن $C/EBP\beta$ نسبت به گروه سالین شد (به ترتیب با $p=0/001$ و $p=0/005$)؛ اما در گروه مت آمفتامین اولیه نسبت به گروه سالین، منجر به کاهش معنی دار بیان ژن $mTOR$ شد ($p=0/04$). تمرینات تداومی با شدت متوسط در گروه مت آمفتامین-تمرین، منجر به کاهش معنی دار بیان ژن $C/EBP\beta$ نسبت به گروه HTME اولیه شد ($p=0/04$)؛ اما نسبت به گروه های HTME اولیه و ثانویه، موجب افزایش معنی دار بیان ژن $mTOR$ گردید. **نتیجه گیری:** احتمالاً تزریق مت آمفتامین باعث تشدید بیان ژن اتوفازیک $C/EBP\beta$ در قشر پیشانی مغز می شود؛ در حالی که تمرینات تداومی با شدت متوسط، می تواند به عنوان یک راهکار پیشگیرانه، باعث تعدیل و تنظیم اتوفازای ناشی از مت آمفتامین، از طریق افزایش بیان ژن $mTOR$ در مغز شود. **واژه های کلیدی:** تمرین تداومی، بیان ژن های اتوفازای، مت آمفتامین، قشر پیشانی.

مقدمه

مت آمفتامین^۱ (METH) یک داروی غیرقانونی بسیار اعتیاد آور است که به طور گسترده‌ای، مورد سوء مصرف قرار می‌گیرد (کاروالهو^۲ و دیگران، ۲۰۱۲). این ماده به عنوان یک محرک روانی- حرکتی، با نتایج فیزیولوژیکی قوی در سیستم عصبی محیطی و مرکزی شناخته شده که منجر به اختلالات جسمی و روانی می‌شود (گونزالز^۳ و دیگران، ۲۰۱۰). سوء مصرف این ماده با آپوپتوزیس، استرس اکسیداتیو و سمیت عصبی ناشی از METH همراه است و باعث مسمومیت عصبی در مناطق مختلف مغز می‌شود (دنگ^۴ و دیگران، ۲۰۰۱). چندین مطالعه از بروز مسمومیت تحریکی (ترشح بیش از حد گلوتامات)، افزایش سطح کلسیم داخل سلولی، تولید رادیکال‌های آزاد و نیتریک اکساید، فعال‌سازی مسیرهای آپوپتوزیسی، تجزیه پروتئین‌های اسکلتی و آسیب DNA، بر اثر مسمومیت با METH؛ پشتیبانی کرده‌اند (یاماموتو^۵ و دیگران، ۲۰۱۰). یکی از مکانیسم‌های مسمومیت ناشی از METH، استرس اکسیداتیو است. متابولیت‌های اکسیداتیو مشتق شده از METH، سیگنال‌های مختلفی را در سلول‌ها فعال می‌کنند که به مرگ سلول از طریق آپوپتوزیس منتهی می‌شود. در طی این فرآیند، METH باعث اختلال در سیستم یوبی کوئیتین- پروتئازوم^۶ می‌شود و یک فعال‌سازی مشخص از اتوفاژی^۷ را ایجاد می‌کند (پاسکوالی^۸ و دیگران، ۲۰۰۸). اتوفاژی یک مسیر کاتابولیک بسیار محافظت‌ی و تنظیمی است که برای حفظ هموستاز انرژی سلول و تنظیم رشد سلول، بسیار مهم است. این مکانیزم، به عنوان یک مکانیزم رایج فیزیولوژیکی شناخته شده است که ممکن است به عنوان ابزاری برای بقا در کوتاه مدت عمل کند و در اثر گرسنگی (محرومیت از مواد مغذی اسید آمینه) هیپوکسی و استرس متابولیکی ایجاد نماید (آن^۹ و دیگران، ۲۰۱۴؛ جانسن و لامارک^{۱۰}، ۲۰۱۱). مشخصه اصلی فرآیند اتوفاژی، جداسازی^{۱۱} محتوای سیتوپلاسمی از طریق تشکیل وزیکول‌های غشای دوگانه^{۱۲} است که با واسطه مجموعه‌ای

از پروتئین‌های مربوط به اتوفاژی حفظ می‌شود (روح بخش و دیگران ۲۰۱۶). پروتئین‌های اتصال‌ی تقویت کننده CCAAT^{۱۳} (C/EBP)، یک خانواده از فاکتورهای رونویسی طبقه زیپ لوسین پایه^{۱۴} (bZIP)) هستند که شش عضو از آن در پستانداران شناسایی شده‌اند؛ مانند C/EBP β . با تنظیم رونویسی از مجموعه‌های خاص ژن‌ها، C/EBP β با یک روش خاص سلولی، در برنامه‌های سلولی مانند تمایز، تکثیر، مرگ و بقای سلول، و متابولیسم انرژی شرکت می‌کند (نرلو^{۱۵} و دیگران، ۲۰۰۷؛ رامجی^{۱۶} و دیگران، ۲۰۰۲؛ اسکریم^{۱۷} و دیگران، ۲۰۰۴).

تعدادی از مطالعات، درگیری C/EBP β در مرگ عصبی را بررسی کرده‌اند (ژو^{۱۸} و دیگران، ۲۰۱۸). در مطالعه‌ای، ژو و دیگران (۲۰۱۸) دریافته‌اند که C/EBP β با مهار اتوفاژی و آپوپتوزیس ناشی از METH، از میزان سمیت عصبی ناشی از METH می‌کاهد. مطالعات اخیر گزارش داده‌اند که مهار C/EBP β توسط RNA تداخل کننده^{۱۹} (RNAi) یا الیگونوکلوئوتیدهای ضد حس، باعث کاهش مرگ عصبی ناشی از محرومیت از عامل رشد یا قرار گرفتن در معرض این متیل دی آسپاراتات^{۲۰} (NMDA) در سلول‌های گرانولی مخچه موش می‌شود، روندی که نشان می‌دهد C/EBP β در برنامه‌های مرگ عصبی شرکت می‌کند (بریفالت^{۲۱} و دیگران، ۲۰۱۵؛ پن^{۲۲} و دیگران، ۲۰۱۳). از طرف دیگر، نشان داده شده که فعال شدن مسیر پیام دهی mTOR می‌تواند آپوپتوزیس سلول توموری را کاهش دهد و مهار فعالیت mTOR با افزایش تشکیل اتوفاگوزوم‌ها، باعث ایجاد اتوفاژی می‌گردد (راویکومار^{۲۳} و دیگران، ۲۰۱۰). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که METH، قادر به ایجاد اتوفاژی در سیستم دوپامینرژیک^{۲۴} است. به خوبی مشخص شده است که mTOR سیگنال‌های خارج سلولی را برای تنظیم تکثیر و رشد سلول ادغام می‌کند (بای و جیانگ^{۲۵}، ۲۰۱۰). طبق مطالعات قبلی، mTOR یک هدف مهم در اتوفاژی ناشی از METH است (لی^{۲۶} و دیگران، ۲۰۱۲). در این مطالعات، نشان داده شد که قرار گرفتن در معرض METH باعث کاهش

1. Methamphetamine
2. Carvalho
3. Gonzales
4. Deng
5. Yamamoto
6. Ubiquitin-Proteasome system
7. Autophagy
8. Pasqali
9. An

10. Johansen & Lamark
11. Sequestration
12. Double-membrane vesicles
13. CCAAT-enhancer binding proteins
14. Basic-leucine zipper
15. Nerlov
16. Ramji & Foka
17. Schrem
18. Xu

19. RNA interference
20. N-Methyl-D-Aspartate
21. Brifault
22. Pan
23. Ravikumar
24. Dopaminergic system
25. Bai & Jiang
26. Li

دوپامین و تمام رفتارها شامل فعالیت حرکتی، رابطه وجود دارد و فعالیت بدنی مستلزم ترکیب و انتشار دوپامین در گره‌های پایه^۶ است؛ این مسیر که در قشر پیشانی مغز قرار دارد، می‌تواند هم در انجام فعالیت بدنی و هم در برخی از ویژگی‌های مربوط به ایجاد اعتیاد، دخیل باشد (ایسن و برکت^۷، ۲۰۱۷). با توجه به موارد ذکر شده، هم METH و هم فعالیت ورزشی، می‌توانند باعث القاء اتوفازی در مغز شوند، با این تفاوت که اتوفازی دارای عملکردی دوگانه است. یعنی از یک طرف باعث افزایش مدت و میزان بقای سلول؛ و از طرف دیگر و در مراحل پیشرفته، موجب مرگ سلول می‌شود (شرز و الازار^۸، ۲۰۰۷). اتوفازی یک فرآیند ضروری برای عملکرد طبیعی بافت‌ها می‌باشد و در صورت تنظیم، می‌تواند از طریق تخریب پروتئین‌های دنا توره شده^۹ و تولید اسیدهای آمینه در سلول، زمینه اصلی رشد و بقای سلول را فراهم کند (جوکار و شرافتی مقدم، ۲۰۱۹). با توجه به نتایج مطالعات انجام شده، METH باعث ایجاد اتوفازی با اثرات منفی (ایجاد سمیت عصبی و در نهایت، از بین بردن سلول‌های عصبی) می‌شود؛ اما تمرینات ورزشی می‌توانند نقش کلیدی در تنظیم پروتئین‌های درگیر در مسیر اتوفازی داشته باشند و تنظیم اتوفازی از این طریق، می‌تواند عامل مؤثری در سازوکارهای سلولی و مولکولی باشد (جوکار و شرافتی مقدم، ۲۰۱۹؛ آقا علی نژاد و هاشمی جوکار، ۲۰۱۹).

به طور کلی مشخص نیست که METH و تمرینات استقامتی، اتوفازی را در قشر پیشانی مغز افزایش می‌دهند یا کاهش؟ و این که تأثیر هر کدام از آن‌ها بر بیان ژن‌های $C/EBP\beta$ و $mTOR$ مربوط به اتوفازی چگونه است؟ بر این اساس، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرین تداومی با شدت متوسط، بر بیان ژن‌های $C/EBP\beta$ و $mTOR$ مرتبط با اتوفازی در قشر پیشانی موش‌های صحرایی وابسته به METH بود.

روش تحقیق

روش تحقیق حاضر از نوع تجربی است. طرح مطالعه، توسط کمیته اخلاق دانشگاه حکیم سبزواری با شناسه IR.HSU.AEC.1401.010 مصوب و اجرا گردید. از میان موش‌های

$mTOR$ فسفریله می‌شود. نتایج یک مطالعه دیگر نشان داده که قرار گرفتن در معرض METH، باعث کاهش $mTOR$ فسفریله و افزایش بیان نشانگرهای اتوفازی $LC3-II$ و $Beclin-1$ می‌شود (ژو و دیگران، ۲۰۱۷). هوانگ^۱ و دیگران (۲۰۱۹)، در مورد مکانیسم مولکولی $C/EBP\beta$ این گونه عنوان کرده‌اند که $C/EBP\beta$ در اتوفازی ناشی از METH از طریق محور پیام دهی $C/EBP\beta/DDIT4/TSC2/mTOR$ عمل می‌کند و دخالت آن در آپوپتوزیس ناشی از METH از طریق مسیر سیگنال دهی آپوپتوزیس میتوکندریایی مرتبط با $Trib3/Parkin/\alpha-syn$ ، در هر نوروون دوپامینرژیک موش صحرایی، اتفاق می‌افتد.

فعالیت ورزشی دارای فواید بی‌شماری برای سلامتی است که می‌توان به افزایش طول عمر، محافظت در برابر بیماری‌های قلبی - عروقی، دیابت، سرطان و بیماری‌های تخریب کننده سیستم عصبی اشاره کرد. بسیاری از مزایای سلامتی مربوط به انجام فعالیت‌های ورزشی، با عملکردهای شناخته شده محافظتی مسیر سلولی اتوفازی، هم پوشانی دارند (میزوشیما^۲ و دیگران، ۲۰۰۸؛ لویین و کرومر^۳، ۲۰۰۸). از این رو، می‌توان گفت که برخی از مزایای سلامتی ورزش ممکن است به دلیل فعال شدن اتوفازی باشد (هی^۴ و دیگران، ۲۰۱۲). در مطالعه ای که توسط لویده^۵ و دیگران (۲۰۱۷) بر روی موش‌ها انجام شده است، دویدن داوطلبانه، افزایش بیشتر میزان $p-mTOR$ ، هم در نوروون‌ها و هم در گلیای قشر جلو پیشانی، جسم مخطط، هیپوکامپ، هیپوتالاموس و آمیگدال را در مقایسه با دویدن اجباری؛ در پی داشته است. این نتایج همچنین نشان داد که سیگنال دهی $mTOR$ به ورزش حساس است و افزایش این سیگنال دهی، می‌تواند به اثرات مفید ورزش بر عملکرد شناختی، حرکتی و سلامت روان کمک کند. در مطالعه ای شفیع و دیگران (۲۰۲۲)، ضمن بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان ژن و وضعیت آنتی اکسیدانی هیپوکامپ موش‌های صحرایی وابسته به METH، افزایش معنی دار حافظه فضایی و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را گزارش کرده‌اند. یکی از مناطق مهم حرکتی در مغز، قشر پیشانی است که جزو مسیر مزوکورتیکال در سیستم دوپامینرژیک مغز می‌باشد. با توجه به اینکه بین

1. Huang

2. Mizushima

3. Levine & Kroemer

4. He

5. Lloyd

6. Base nodes

7. Ebbesen & Brecht

8. Scherz & Elazar

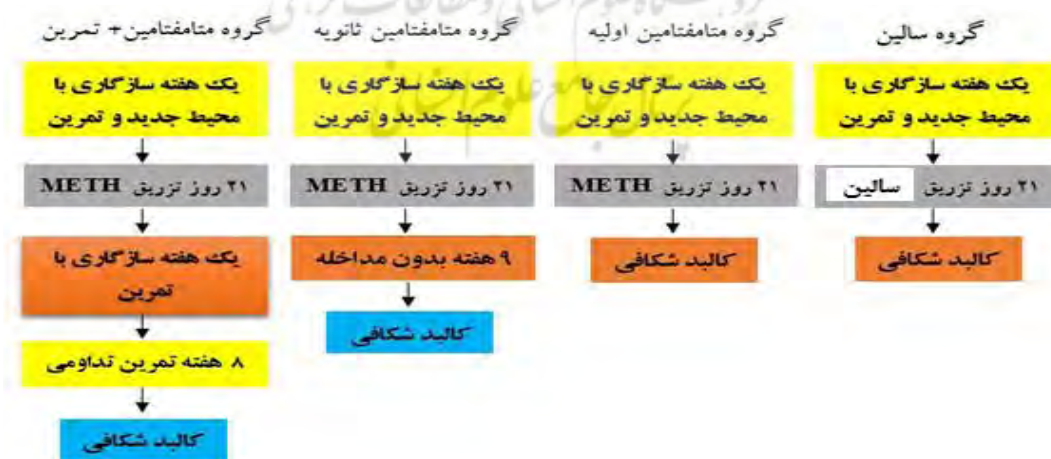
9. Denaturated

آیا تمرین اثر گذار بوده است یا نه؛ و اثر زمان هم مورد بررسی قرار گیرد.

ابتدا آزمون ارزیابی حداکثر سرعت برای برآورد سرعت بیشینه انجام شد. بدین منظور، ابتدا پنج دقیقه گرم کردن به صورت خیلی آهسته صورت گرفت که تقریباً معادل با سرعت هشت متر در دقیقه بر روی نوارگردان است، بعد از گرم کردن، آزمون ورزشی فزاینده تا مرز خستگی انجام گردید؛ بدین صورت که با سرعت ۱۰ متر در دقیقه فعالیت شروع شد و به ازای هر دو دقیقه، سه متر بر دقیقه بر سرعت آن افزوده شد تا موش‌ها، دیگر قادر به دویدن نباشند (خلفی و دیگران، ۲۰۱۶). سپس بر مبنای میانگین سرعت بیشینه موش‌های صحرایی، برنامه تمرین طراحی گردید.

پروتکل تمرین تداومی با شدت متوسط در این پژوهش، به مدت هشت هفته و تکرار پنج روز در هفته، بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان به اجرا درآمد. مدت تمرین در هر جلسه ۳۶ دقیقه بود که شامل شش دقیقه گرم کردن با شدت ۲۰ درصد سرعت بیشینه، شش دقیقه سرد کردن با شدت ۲۰ درصد سرعت بیشینه، و ۲۴ دقیقه برنامه اصلی تمرین تداومی با شدت ۶۰ تا ۶۵ درصد سرعت بیشینه بود. شیب نوارگردان در طول تمامی مراحل تمرین، روی صفر درجه تنظیم گردید. شکل (دیاگرام) یک مراحل مداخلات صورت گرفته را نشان می‌دهد.

صحرایی نر نژاد ویستار بالغ، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی هفت الی هشت هفته‌ای، با وزن ۲۰۰ تا ۲۳۰ گرم؛ به عنوان نمونه آماری، از مزرعه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شدند. به منظور جلوگیری از تداخل گروه‌ها، در مدت اجرای مداخله تمرینی و کالبدشکافی، قفس‌های مجزایی با دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی، در نظر گرفته شد و در هر قفس، تعداد چهار سر موش، طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری، نگهداری شدند. سپس موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه سالین، METH اولیه، METH ثانویه، و METH + تمرین، تقسیم شدند. در ادامه، به مدت ۲۱ روز، روزانه ۵ میلی‌گرم METH (خلوص کمتر از ۹۶ درصد) حل شده در ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالین فیزیولوژیک (کلرید سدیم ۰/۹ درصد)، به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی، به شکل زیر جلدی به حیوانات تزریق شد (عبداله و دیگران، ۲۰۲۰). در این مدت به طور هم‌زمان، هر روز نیم میلی‌لیتر محلول سالین فیزیولوژیک به موش‌های صحرایی گروه سالین تزریق گردید. گروه METH اولیه بعد از ۲۱ روز تزریق، همراه با گروه سالین کشته شدند و برای مقایسه با گروه سالین مورد استفاده قرار گرفتند تا مشخص شود بعد از تزریق، اعتیاد صورت گرفته است یا خیر؟ اما گروه METH ثانویه، بعد از ۲۱ روز تزریق باقی ماندند تا در پایان دوره تمرینی، با گروه تمرین + METH، مقایسه شوند تا مشخص گردد که



شکل ۱. نمایش شماتیک اجرای مداخلات صورت گرفته در مطالعه حاضر

گردید و در نهایت، Ct mean سه مرتبه ثبت شد. برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژن هدف، از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ بهره برداری گردید. به منظور بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از Real-time PCR، تمام پرایمرها توسط نرم‌افزار Allele ID طراحی شدند و از ژن B2M به عنوان کنترل داخلی، استفاده گردید. پس از اتمام فعالیت دستگاه و مشاهده نمودارها مبنی بر افزایش تعداد قطعه مورد نظر و میزان نشر فلورسانس با محاسبه $\Delta\Delta Ct$ ، میزان تغییر در بیان ژن مورد نظر نسبت به Gapdh و حالت کنترل (NTC) که فاقد محیط‌های تمایزی است، سنجیده شد و سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ، میزان بیان آن محاسبه گردید.

بخش اول روش‌های آماری مربوط به توصیف ویژگی‌های آزمودنی‌ها و داده‌های خام پژوهش بود که از طریق آمار توصیفی انجام گردید، پس از آن، فرضیه‌های پژوهش با کمک آمار استنباطی در سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ بررسی شدند. برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها، از آزمون شاپیرو-ویلک^۳ استفاده شد. سپس برای مقایسه بین گروهی متغیرهای مورد نظر، از آزمون تحلیل واریانس یک راهه^۴ بهره برداری گردید. در ادامه، آزمون تعقیبی توکی^۵ برای مقایسه زوجی بین گروه‌ها، بکار گرفته شد. کلیه محاسبات آماری و رسم نمودارها، از طریق نرم‌افزار آماری GraphPad Prism ویرایش ۹ انجام شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف استاندارد وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف، در جدول یک و تغییرات وزنی موش‌ها در شکل دو، توصیف شده است.

جدول ۱. میانگین و انحراف استاندارد وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

گروه‌ها	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)
کنترل سالیین	211/1 ± 11/48	247/3 ± 18/18
METH اولیه	216/1 ± 12/94	232/9 ± 9/94
METH + تمرین تداومی	213/6 ± 10/15	285/4 ± 16/91
METH ثانویه	210/5 ± 9/36	309/3 ± 20/79

اما میزان بیان ژن *CIEBPβ* در گروه METH + تمرین نسبت به گروه سالیین (پس از تزریق METH)، تغییر معنی‌داری نداشت ($p=0/39$). به علاوه، تمرین تداومی با شدت متوسط در گروه METH + تمرین نسبت به گروه METH

بعد از ۲۱ روز تزریق METH و محلول سالیین فیزیولوژیک، موش‌های صحرایی دو گروه سالیین و METH اولیه، توزین گردیدند و از طریق گاز CO_2 بی‌هوش و سپس، کشته شدند. در پایان مطالعه، ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی دو گروه METH ثانویه و METH + تمرین نیز، پس از توزین، از طریق گاز CO_2 بی‌هوش و کشته شدند (بویین^۱ و دیگران، ۲۰۱۷). بلافاصله بعد، کالبد شکافی صورت گرفت و بافت قشر پیشانی مغز به دقت برداشته شد و پس از شستشو با آب مقطر؛ جداسازی گردید. نیمی از بافت قشری مغز جهت انجام آزمایش‌های سلولی و مولکولی در میکروتیوب گذاشته شد و در نیتروژن مایع، منجمد گردید و سپس، در دمای $-80^{\circ}C$ درجه سانتی‌گراد، برای بررسی میزان بیان ژن یا mRNA، فریز شد.

بیان هریک از ژن‌های مورد نظر در زمان تحلیل، با استفاده از پرایمرهای Reverse و Forward شرکت سیناکلون (Sinacolon) تعیین شد. استخراج RNA براساس دستورالعمل کیت استخراج RNA، سفارش و ساخت شرکت یکتا تجهیز ایران، با استفاده از محلول‌های کیت استخراج شد و پروتکل پیشنهادی شرکت سازنده صورت گرفت. برای سنجش RNA استخراج شده، از دستگاه بایوفتومتر با طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. میانگین OD خوانده شده ۱/۹۲ بود که نشانگر کارایی مناسب RNA می‌باشد. پس از بهینه‌سازی واکنش، cDNA مربوط به گروه‌های مورد آزمایش، مطابق جدول زمانی، تحت واکنش Real-Time PCR قرار گرفت. Ct مربوط به واکنش‌ها، از طریق نرم‌افزار دستگاه واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز زمان واقعی استخراج

بر اساس نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی؛ تزریق METH در گروه METH اولیه و METH ثانویه نسبت به گروه سالیین، منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن *CIEBPβ* شد (به ترتیب با $p=0/001$ و $p=0/005$ ؛

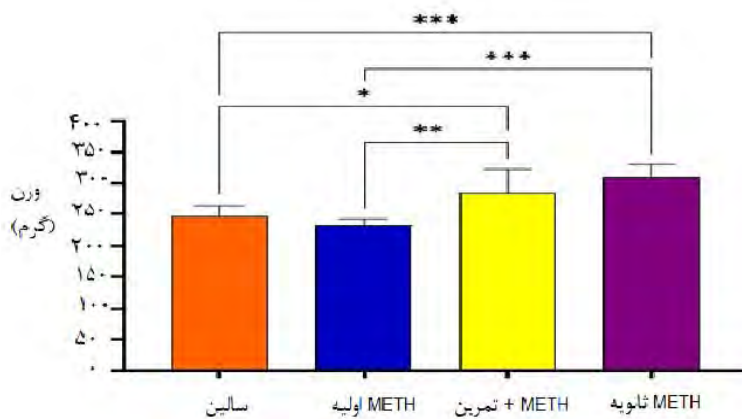
1. Boivin

2. Beta 2 Microglobulin

3. Shapiro-Wilk

4. One way - ANOVA

5. Tukey

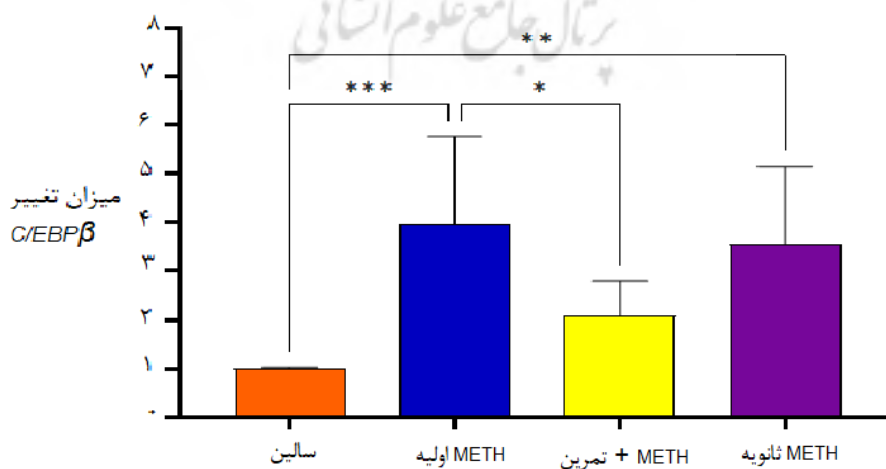


شکل ۲. تغییرات وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف. * نشانه اختلاف معنی دار گروه سالمین با گروه METH + تمرین؛ ** نشانه اختلاف معنی دار گروه METH اولیه با گروه METH + تمرین؛ *** نشانه اختلاف معنی دار گروه METH ثانویه با گروه METH اولیه و سالمین؛ سطح معنی داری $p < 0.05$.

اولیه، منجر به کاهش معنی دار بیان ژن $C/EBP\beta$ شد ($p = 0.04$) / داری در بیان ژن $C/EBP\beta$ ، بین گروه METH + تمرین با گروه METH اولیه و METH ثانویه وجود نداشت ($p = 0.15$) (شکل سه و جدول دو).
 ثانویه (پس از تمرین تداومی با شدت متوسط)، تفاوت معنی داری نداشت ($p = 0.92$). با این حال، اختلاف معنی

جدول ۲. مقایسه بیان ژن $C/EBP\beta$ و $mTOR$ در گروه‌های مختلف موش‌های صحرایی

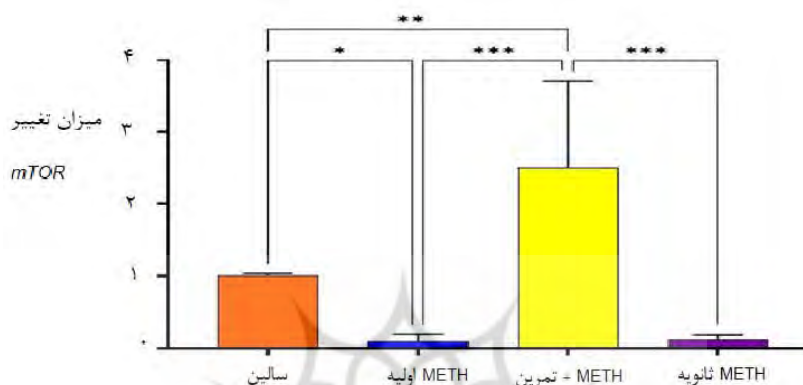
گروه ها	ارزش p برای متغیر $C/EBP\beta$	ارزش p برای متغیر $mTOR$
گروه کنترل سالمین	$p = 0.001$	$p = 0.04$
گروه METH + تمرین	$p = 0.39$	$p = 0.001$
گروه METH ثانویه	$p = 0.05$	$p = 0.05$
گروه METH + تمرین	$p = 0.04$	$p = 0.001$
گروه METH ثانویه	$p = 0.92$	$p = 0.99$
گروه METH + تمرین تداومی	$p = 0.15$	$p = 0.001$



شکل ۳. تغییرات شاخص ژنی $C/EBP\beta$ قشر پیشانی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف. * نشانه اختلاف معنی دار گروه METH اولیه با گروه METH + تمرین در سطح $p = 0.04$; ** نشانه اختلاف معنی دار گروه METH ثانویه با گروه سالمین در سطح $p = 0.005$ و *** نشانه اختلاف معنی دار گروه METH اولیه با گروه سالمین در سطح $p = 0.001$.

تداومی با شدت متوسط در گروه METH + تمرین نسبت به گروه HTME اولیه، منجر به افزایش بیان ژن *mTOR* شده است که این اختلافات از لحاظ آماری معنی دار بود ($p=0/001$)؛ اما میزان بیان ژن *mTOR* بین گروه METH اولیه و گروه METH ثانویه، تفاوت معنی داری نداشت ($p=0/99$). همچنین اختلاف معنی داری در کاهش بیان ژن *mTOR*، پس از تمرین تداومی با شدت متوسط، بین گروه METH + تمرین با گروه METH ثانویه وجود داشت ($p=0/001$) (شکل چهار و جدول دو).

بر اساس نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی؛ تزریق METH در گروه METH اولیه نسبت به گروه کنترل سالین منجر به کاهش بیان ژن *mTOR* شده است ($p=0/04$)؛ اما این اختلاف در گروه METH ثانویه با گروه سالین از لحاظ آماری معنی دار نبود ($p=0/05$). از طرفی، میزان بیان ژن *mTOR* در گروه METH + تمرین نسبت به گروه سالین افزایش داشت و از لحاظ آماری معنی دار بود ($p=0/006$). همچنین نتایج مشخص کرد که تمرین



شکل ۴. تغییرات بیان ژن *mTOR* قشر پیشانی موش‌های صحرانی در گروه‌های مختلف. * نشانه اختلاف معنی دار گروه METH اولیه با گروه سالین در سطح $p=0/04$ ؛ ** نشانه اختلاف معنی دار گروه METH + تمرین با گروه سالین در سطح $p=0/001$ ؛ *** نشانه اختلاف معنی دار گروه METH ثانویه و اولیه با گروه METH + تمرین در سطح $p=0/006$.

بحث

بخش‌های مهم حرکتی در مغز می‌باشد که می‌تواند هم در انجام فعالیت بدنی و هم در برخی از ویژگی‌های مربوط به اعتیاد، دخیل باشد؛ ضمن آن که این بخش از مغز، تفکر و آگاهی از محرک‌های حسی و کنترل ارادی حرکات را امکان‌پذیر می‌سازد (ایسن و پرکت، ۲۰۱۷). هوانگ^۱ و دیگران (۲۰۱۹)، در مورد مکانیسم مولکولی *C/EBPβ* این گونه عنوان کرده‌اند که *C/EBPβ* در اتوفازای ناشی از METH از طریق محور پیام‌دهی *C/EBPβ/DDIT4/TSC2/mTOR* عمل می‌کند و دخالت آن در آپوپتوزیس ناشی از METH، از طریق مسیر سیگنال‌دهی آپوپتوزیس میتوکندریایی مرتبط با *Trib3/Parkin/α-syn* در هر نورون دوپامینرژیک موش صحرانی اتفاق می‌افتد. نتایج این پژوهش در مورد اتوفازای، با نتایج تحقیق حاضر همسو است. در مطالعه‌ای که ژو و دیگران (۲۰۱۸) انجام دادند، فعال شدن مسیر پیام‌دهی مربوط به *C/EBPβ* در اتوفازای و آپوپتوزیس سلول‌های عصبی، پس از قرار گرفتن در معرض METH، مورد بررسی قرار گرفت و پس از تجزیه و تحلیل

طبق یافته‌های تحقیق حاضر، تزریق METH موجب افزایش معنی دار بیان ژن *C/EBPβ* و کاهش معنی دار بیان ژن *mTOR* در موش‌های صحرایی گردید. از طرف دیگر، تمرین تداومی با شدت متوسط، کاهش معنی دار بیان ژن *C/EBPβ* و افزایش معنی دار بیان ژن *mTOR* را در پی داشت. نتایج حاصل از مطالعات مختلف نشان داده است که تمرینات ورزشی می‌توانند نقش کلیدی در تنظیم پروتئین‌های درگیر در مسیر اتوفازای داشته باشند و تنظیم اتوفازای توسط تمرینات ورزشی، می‌تواند عامل مؤثری در سازوکارهای سلولی و مولکولی باشد (جوکار و شرافتی مقدم، ۲۰۱۹؛ آقا علی نژاد و هاشمی جوکار، ۲۰۱۹). اتوفازای یک فرآیند ضروری برای عملکرد طبیعی بافت‌ها می‌باشد و در صورت تنظیم، می‌تواند از طریق تخریب پروتئین‌های دناتوره شده و تولید اسیدهای آمینه در سلول، زمینه اصلی رشد و بقای سلول را فراهم کند (جوکار و شرافتی مقدم، ۲۰۱۹). قشر پیشانی، یکی از

ورزشی، عملکرد میتوکندری قشر مغز و مخچه بهبود یافته و نشانگرهای مربوط به استرس اکسیداتیو و آپوپتوزیس؛ کاهش پیدا می‌کند. از طرفی، بیان پروتئین‌های درگیر در بایوژنیزیس میتوکندری و اتوفازی افزایش یافت؛ فقط در گروه تمرین استقامتی این نتایج معنی دار بود. نشان داده شده است که ورزش استقامتی بر روی نوارگردان، باعث تنظیم افزایشی فسفوریلاسیون پروتئین *mTOR* در هیپوکامپ مغز موش‌های نر می‌شود (جانگ^۱، ۲۰۲۰). *mTOR* یک هدف مهم در اتوفازی ناشی از *METH* است (لی و دیگران، ۲۰۱۲) و با توجه به این که در مطالعه حاضر، ژن‌های *C/EBPβ* و *mTOR* مرتبط با اتوفازی ناشی از *METH* در نظر گرفته شده است؛ به نظر می‌رسد که هشت هفته سازگاری با تمرینات تداومی با شدت متوسط، می‌تواند بیان ژن *C/EBPβ* را کاهش دهد؛ تغییری که در نهایت، منجر به افزایش بیان *mTOR* شده و به موجب آن، روند اتوفازی در داخل نورون‌ها کاهش یافته و احتمالاً اثرات استرس اکسیداتیو ناشی از *METH* تعدیل می‌شود. در این صورت، احتمالاً میزان دفاع آنتی‌اکسیدانی هم بهبود پیدا می‌کند؛ اما یکی از محدودیت‌های پژوهش حاضر، عدم سنجش شاخص‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. نتیجه‌گیری: براساس یافته‌های این مطالعه می‌توان اظهار داشت که تزریق *METH* باعث تشدید بیان ژن اتوفازیک *C/EBPβ* در قشر پیشانی مغز می‌شود؛ از طرفی، تمرینات تداومی با شدت متوسط می‌تواند به‌عنوان یک راهکار پیشگیرانه یا درمانی، باعث تعدیل و تنظیم اتوفازی ناشی از *METH* از طریق افزایش بیان ژن *mTOR* در مغز شود. با این حال، نتایج این مطالعه به تنهایی نمی‌تواند مکانیسم اثر ورزش بر اعتیاد به *METH* را به طور کامل توضیح دهد؛ و تحقیقات بیشتری برای دست یافتن به نتایج قطعی ضروری است.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند هیچ گونه تعارض منافی در مقاله حاضر وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

پژوهشگران بدین‌وسیله مراتب قدردانی و سپاس خود را از مسئولان محترم مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان و کسانی که ما را در اجرای پروتکل تحقیق یاری کردند، اعلام می‌دارند.

داده‌ها، نتایج نشان داد که قرار گرفتن در معرض دوزهای نسبتاً زیاد *METH*، بیان پروتئین *C/EBPβ* را افزایش می‌دهد، تغییری که با افزایش آپوپتوزیس عصبی و اتوفازی همراه است. نتایج مطالعه فوق نشان داد که *C/EBPβ* به عنوان یک تنظیم‌کننده اصلی در اتوفازی ناشی از *METH* از طریق مسیر پیام‌دهی *mTOR* می‌باشد. نتایج این تحقیق همسو با تحقیق حاضر است، اما آنها میزان پروتئین *C/EBPβ* را مورد بررسی قرار داده‌اند و یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر، عدم سنجش این شاخص پروتئینی است. متأسفانه تحقیق مشابهی در ارتباط با اثر فعالیت ورزشی بر شاخص مورد نظر مشاهده نشد؛ با این حال، به نظر می‌رسد که تمرینات تداومی با شدت متوسط، توانست با کاهش بیان ژن *C/EBPβ* در قشر پیشانی مغز، باعث تنظیم اتوفازی و مهار آپوپتوزیس ناشی از *METH* بشود.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که *METH* قادر به ایجاد اتوفازی در سیستم دوپامینرژیک است. به خوبی شناخته شده است که *mTOR* سیگنال‌های خارج سلولی را برای تنظیم تکثیر و رشد سلول ادغام می‌کند (بای و جیانگ، ۲۰۱۰). طبق مطالعات قبلی، *mTOR* یک هدف مهم در اتوفازی ناشی از *METH* است (لی و دیگران، ۲۰۱۲). در این مطالعه، نشان داده شد که قرار گرفتن در معرض *METH* باعث کاهش *mTOR* فسفریله می‌شود. نتایج یک مطالعه دیگر نشان داده است که قرار گرفتن در معرض *METH* باعث کاهش *mTOR* فسفریله و افزایش بیان نشانگرهای اتوفازی *Beclin-1* و *LC3-II* می‌شود (ژو و دیگران، ۲۰۱۷). لوید و دیگران (۲۰۱۷) مطالعه‌ای را به منظور بررسی تأثیر ورزش بر پیام‌دهی *mTOR* در مناطق درگیر در شناخت و رفتار عاطفی، در مغز موش‌های صحرایی نر انجام دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که ورزش ارادی و اجباری، باعث افزایش *p-mTOR* در هیپوتالاموس، گلیا در جسم مخطط، هیپوکامپ، و آمیگدال شده و ورزش ارادی حداقل اثرات را بر پیام‌دهی *mTOR* در قشر پیشانی دارد. در مطالعه دیگری، مارکوس-آلکزوا^۱ و دیگران (۲۰۱۵) تأثیر فعالیت ورزشی را بر نشانگرهای اتوفازی، دینامیکی، آپوپتوزیسی و همین‌طور، انرژی زیستی میتوکندریایی در مخچه و قشر مغز موش‌های صحرایی نر؛ مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها مطالعه نشان داد که در هر دو گروه فعالیت

منابع

- Abdullah, C.S., Aishwarya, R., Alam, S., Morshed, M., Remex, N.S., Nitu, S., ... & Bhuiyan. M.D.S. (2020). Methamphetamine induces cardiomyopathy by Sigmar1 inhibition-dependent impairment of mitochondrial dynamics and function. *Communications Biology*, 3(682), 1-20. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01408-z>
- Agha-Alinejad, H., & Hashemi Jokar, E. (2019). Effect of six weeks of interval exercise training along with selenium nanoparticle ingestion on bcl-2 and lc3 genes expression in the tumor tissue of breast tumor bearing mice. *Iranian Quarterly Journal of Breast Disease*, 12(2), 26-37. [In Persian]. <https://doi.org/10.30699/acadpub.ijbd.12.2.26>
- An, Z., Tassa, A., Thomas, C., Zhong, R., Xiao, G., Fotedar, R., Tu, B.P., ... & Levine B. (2014). Autophagy is required for G(1)/G(0) quiescence in response to nitrogen starvation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Autophagy*, 10, 1702-1711. <https://doi.org/10.4161/auto.32122>
- Bai, X., & Jiang, Y. (2010). Key factors in mTOR regulation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(2), 239–253. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0163-7>
- Boivin, J.R., Piekarski, D.J., Wahlberg, J.K., & Wilbrecht, L. (2017). Age, sex, and gonadal hormones differently influence anxiety-and depression-related behavior during puberty in mice. *Psychoneuroendocrinology*, 85, 78-87. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.08.009>
- Brifault, C., Gras, M., Liot, D., May, V., Vaudry, D., & Wurtz, O. (2015). Delayed pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide delivery after brain stroke improves functional recovery by inducing M2 microglia/macrophage polarization. *Stroke*, 46, 520–528. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.006864>
- Carvalho, M., Costa, V.M., Capela, J.P., Pontes, H., Remiao, F., Carvalho, F., ... & Lourdes Bastos. M.D. (2012). Toxicity of amphetamines. *Archives of Toxicology*, 86(8), 1167-1231. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0815-5>
- Deng, X., Wang, Y., Chou, J., & Cadet, J.L. (2001). Methamphetamine causes widespread apoptosis in the mouse brain: evidence from using an improved TUNEL histochemical method. *Molecular Brain Research*, 93(1), 64-69. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(01\)00184-X](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(01)00184-X)
- Ebbesen, C.L., & Brecht, M. (2017). Motor cortex—to act or not to act?. *Springer Nature*, 18, 694-705. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.119>
- Gonzales, R., Mooney, L., & Rawson, R.A. (2010). The methamphetamine problem in the United States. *Annual Review of Public Health*, 31, 385-398. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.012809.103600>
- He, C., Sumpter, Jr.R., & Levine, B. (2012). Exercise induces autophagy in peripheral tissues and in the brain. *Autophagy*, 8(10), 1548-1551. <https://doi.org/10.4161/auto.21327>
- Huang, E., Huang, H., Guan, T., Liu, C., Qu, D., Xu, Y., ... & Chen. L. (2019). Involvement of C/EBP β -related signaling pathway in methamphetamine-induced neuronal autophagy and apoptosis. *Toxicology Letters*, 312, 11-21. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.05.003>
- Jang, Y. (2020). Endurance exercise-induced expression of autophagy-related protein coincides with anabolic expression and neurogenesis in the hippocampus of the mouse brain. *NeuroReport*, 31, 442–449. <https://doi.org/10.1097/>

WNR.000000000001431

Johansen, T., & Lamark, T. (2011). Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy*, 7(3), 279-296. <https://doi.org/10.4161/auto.7.3.14487>

Jokar, M., & Sherafati Moghadam, M. (2019). High intensity interval training inhibits autophagy in the heart tissue of type 2 diabetic rats by decreasing the content of FOXO3A and BECLIN-1 proteins. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 18(6), 2019. [In Persian]. <http://ijdl.tums.ac.ir/article-1-5882-en.html>

Khalafi, M., Shabkhiz, F., Azali Alamdari, K., & Bakhtiyari, A. (2016). Irisin response to two types of exercise training in type 2 diabetic male rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 19(6), 37-45. [In Persian]. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-4242-en.html>

Levine, B., & Kroemer, G. (2008). Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*, 132, 27-42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.018>

Li, Y., Hu, Z., Chen, B., Bu, Q., Lu, W., Deng, Y., ... & Sheu, M.L. (2012). Taurine attenuates methamphetamine-induced autophagy and apoptosis in PC12 cells through mTOR signaling pathway. *Toxicology Letters*, 215(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.09.019>

Loyd, B.A., Hake, H.S., Ishiwata, T., Farmer K.E., Loetz, E.C., Fleshner, M., ... & Greenwood B.N. (2017). Exercise increases mTOR signaling in brain regions involved in cognition and emotional behavior. *Behavioural Brain Research*, 4328(16), 1-38. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.01.033>

Marques-Aleixo, I., Santos-Alves, E., Balça, M.M., Rizo-Roca, D., Moreira, P.I., & Oliveira, P.J. (2015). Physical exercise improves brain cortex and cerebellum mitochondrial bioenergetics and alters apoptotic, dynamic and auto(mito) phagy markers. *Neuroscience*, 301, 480-495. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.027>

Mizushima, N., Levine, B., Cuervo, A.M., & Klionsky, D.J. (2008). Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature*, 451, 1069-75. <https://doi.org/10.1038/nature06639>

Modirzadeh Tehrani, A., Eskandarian Boroujeni, M., Aliaghaei, A., Hosseinpour Feizia, M.A., & Safaralizadeh, R. (2019). Methamphetamine induces neurotoxicity-associated pathways and stereological changes in prefrontal cortex. *Neuroscience Letters*, 712, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134478>

Nerlov, C. (2007). The C/EBP family of transcription factors: a paradigm for interaction between gene expression and proliferation control. *Trends in Cell Biology*, 17 (7), 318-324. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2007.07.004>

Pan, H.C., Yang, C.N., Hung, Y.W., Lee, W.J., Tien, H.R., Shen, C.C., ... & Sheu, M.L. (2013). Reciprocal modulation of C/EBP-a and C/EBP-b by IL-13 in activated microglia prevents neuronal death. *European Journal of Immunology*, 43(11), 2854-2865. <https://doi.org/10.1002/eji.201343301>

Pasqali, L., Lazzeri, G., Isidoro, C., Ruggieri, S., Paparelli, A., & Fornai, F. (2008). Role of autophagy during methamphetamine neurotoxicity. *Annals of The New York Academy of Sciences*, 1139, 191-196. <http://dx.doi.org/10.1038/cddis.2014.64>

Ramji, D.P., & Foka, P. (2002). CCAAT/enhancer-binding proteins: structure, function and regulation. *Biochem Journal*, 365(Pt 3), 561-575. <https://doi.org/10.1042/BJ20020508>

- Roohbakhsh A., Shirani K., & Karimi G. (2016). methamphetamine-induced toxicity: the role of autophagy?. *Chemico-Biological Interactions*, 25(260),163-167. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.10.012>
- Scherz-Shouval R., & Elazar Z. (2007). ROS, mitochondria and the regulation of autophagy. *Trends in Cell Biology*, 17(9), 422-7. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2007.07.009>
- Schrem, H., Klempnauer, J., & Borlak, J. (2004). Liver-enriched transcription factors in liver function and development. Part II: The C/EBPs and D site-binding protein in cell cycle control, carcinogenesis, circadian gene regulation, liver regeneration, apoptosis, and liver-specific gene regulation. *Pharmacological Reviews*, 56(2), 291–330. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2007.07.009>
- Shafiei, A., Haghighi, A.H., Askari, R., Keyhani, A., Nabavizadeh, M.S., & Asadi-Shekari, M. (2022). Effects of moderate-intensity interval training on gene expression and antioxidant status in the hippocampus of Methamphetamine-dependent rats. *Neurotoxicity Research*, 40, 1455–1463. <https://doi.org/10.1007/s12640-022-00532-4>
- Xu, X., Huang, E., Luo, B., Cai, D., Zhao, X., Luo, Q., ... & Wang, H. (2018). Methamphetamine exposure triggers apoptosis and autophagy in neuronal cells by activating the C/EBP β -related signaling pathway. *The FASEB Journal*, 32(12), 6737-6759. <https://doi.org/10.1096/fj.201701460RRR>
- Xu, X., Huang, E., Tai, Y., Zhao, X., Chen, X., Chen, C., ... & Xie, W.B. (2017). Nupr1 modulates methamphetamine-induced dopaminergic neuronal apoptosis and autophagy through CHOP-Trib3-mediated endoplasmic reticulum stress signaling pathway. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10(203), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00203>
- Yamamoto, B.K., Moszczynska, A., & Gudelsky, G.A. (2010). Amphetamine toxicities: classical and emerging mechanisms. *Annals of The New York Academy of Sciences*, 1187, 101-121. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05141.x>

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی