



تأثیر تمرینات هوازی و سم کلرپیریفوس بر بیان ژن های Cop1 , Spa و بافت ریه موش های

صحرائی نر

رامین فلاح^۱، حسن متین همایی^{۲*}، صالح رحمتی احمدآباد^۳

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، تربیت بدنی و علوم ورزشی با گرایش فیزیولوژی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- دانشیار تربیت بدنی و علوم ورزشی با گرایش فیزیولوژی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- استادیار تربیت بدنی، گروه تربیت بدنی، واحد پردیس دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۱۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۵

چکیده

مقدمه: با توجه به عوارض شدیدی که استفاده یا مواجهه با سم کلرپیریفوس (CPF) بر ریه و سیستم تنفسی برجای می‌گذارد، در این مطالعه تأثیرات تمرینات هوازی بر بهبود عوارض ناشی از مسمومیت با CPF در سطح تغییرات بافت ریه و بیان ژن‌ها در موش‌های صحرائی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: ۱۶ سر موش صحرائی نژاد ویستار در ۶ گروه کنترل سالم، کنترل مسموم با دوز ۱، کنترل مسموم با دوز ۳، گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۱، گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۳ و کنترل DMSO تقسیم شدند. ماده CPF در دو دوز مختلف به صورت درون صفاقی به گروه‌های موردنظر تزریق شد. پس از ایجاد مسمومیت، تمرینات ورزشی طبق یک برنامه ورزشی معین به گروه‌های موردنظر داده شد. ارزیابی‌های بافت‌شناسی، اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو (SOD و MDA) و تغییرات بیان دو ژن SP-A و COP-1 در تمامی گروه‌های مورد مطالعه به ترتیب با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی H&E و PAS و *real-time PCR* انجام شد.

نتایج: تصاویر حاصل از ارزیابی‌های بافت‌شناسی نشان داد که میزان تخریب مخاطی بافت ریه در گروه‌های کنترل مسموم با دوز ۱ و دوز ۳ افزایش یافته بود ($P=0/001$). پس از انجام تمرینات هوازی به میزان قابل توجهی از شدت میزان تخریب بافت کاسته شده بود. همچنین شاخص‌های اکسیداتیوی نظیر MDA و آنتی‌اکسیدانی مانند SOD در بافت گروه‌های مسموم به ترتیب به میزان معنی‌داری افزایش یافته بودند که پس از انجام تمرینات مشاهده گردید میزان SOD افزایش و سطح MDA کاهش یافته است. در سطح مولکولی نیز مشاهده شد که بیان دو ژن SP-A و COP-1 در گروه کنترل مسموم با CPF به میزان معنی‌داری کاهش یافته بود که پس از تمرینات هوازی به میزان معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل افزایش یافتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه به نظر می‌رسد تمرینات هوازی از طریق کاهش استرس‌های اکسیداتیو ناشی از مسمومیت با ترکیباتی نظیر CPF نقش مؤثری در کاهش آسیب‌های بافتی ناشی از استرس‌های اکسیداتیو و تنظیم بیان ژن‌های اختصاصی بافتی داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: آفتکش‌های ارگانوفسفات، کلرپیریفوس، تمرینات هوازی، بافت ریه، SP-A، COP-1.

*نویسنده مسئول: تهران، میدان صنعت، ابتدای خیابان ایران زمین، روبروی اداره برق، تلفن: ۸۸۰۷۴۸۷۰، ۸۸۰۷۴۸۷۴، Email: hasanmatinhomae@gmail.com

ارجاع: فلاح رامین، متین همایی حسن، رحمتی احمدآباد صالح. تأثیر تمرینات هوازی و سم کلرپیریفوس بر بیان ژن های Cop1 , Spa و بافت ریه موش های صحرائی نر. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۰؛ ۱۶(۴): ۱۷-۲۷.

مقدمه

در واقع تمرینات هوازی منظم باعث افزایش سوخت و ساز بدن، متعادل شدن سطح هورمون‌ها، تقویت سیستم ایمنی بدن، کاهش چربی و قند خون و دفع سموم، رادیکال‌های آزاد و مواد زائد حاصل از متابولیسم بدن، افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (Cat) و گلوکاتایون ردوکتاز (GPX)، کاهش سطح شخاص‌های استرس اکسیداتیو نظیر مالون دی آلدئید (MDA) و همچنین بهبود علائم برخی مشکلات روحی و روانی نظیر افسردگی، اضطراب و اوتیسم می‌گردد (۱۱-۱۳). در یک مطالعه انجام شده بر روی موش‌های نر مسموم شده با دی سوپروپیل فلوروفسفات (DFP)، به‌عنوان یکی از اعضای خانواده آفت‌کش‌های ارگانوفسفات، مشخص گردید که تمرینات هوازی منظم منجر به بهبود علائم مشکلات قلبی-عروقی و بیماری‌های خود ایمنی ناشی از سم DFP می‌گردد (۱۴). بر اساس آنچه شرح داده شد، هدف از این مطالعه، بررسی اثرات تمرینات هوازی منظم بر بهبود عوارض بافتی ناشی از مسمومیت با سم CPF، میزان استرس اکسیداتیو و تنظیم بیان ژن‌ها در بافت ریوی موش‌های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۳۰ سر موش صحرایی سالم نژاد ویستار (Rattus norvegicus)، با سن حدود هشت هفته و وزن تقریبی بین ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. موش‌های صحرایی در قفس‌های مجزا حاوی آب و مواد غذایی مناسب و در اتاقی برخوردار از دما، رطوبت و نور کافی (دمای حدود ۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت حدود ۵۰ درصد و سیکل‌های ۱۲ ساعته نور و تاریکی تأمین شد) نگهداری شدند و دستورالعمل‌های اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در طول دوره مطالعات حیوانی رعایت گردید.

ماده CPF از شرکت Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) خریداری شد و ابتدا در حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) حل شده و سپس در بافر سالین ۰/۹ درصد رقیق شد.

موش‌های صحرایی مورد مطالعه در ۶ گروه ۵ تکرار طبقه‌بندی شدند که به‌طور خلاصه به‌صورت زیر می‌باشند: گروه ۱: کنترل سالم؛ گروه ۲: کنترل مسموم با CPF (دوز ۱)؛ گروه ۳: کنترل مسموم با CPF (دوز ۳)؛ گروه ۴: تمرین دیده مسموم با دوز ۱؛ گروه ۵: تمرین دیده مسموم با دوز ۳؛ گروه ۶: کنترل (DMSO (Sham). در گروه‌های ۲، ۳، ۴ و ۵، مسمومیت با سم CPF با دو دوز ۱ mg/kg و ۳ mg/kg به‌صورت تزریق درون صفاقی انجام شد. تزریقات به‌صورت پنج روز در هفته و به مدت دو هفته انجام شدند.

جهت انجام تمرینات هوازی، موش‌های صحرایی گروه ۴ و ۵ ابتدا به مدت یک هفته روزی ۲۰ دقیقه بر روی تردمیل مخصوص جوندگان با سرعت ۹ متر در دقیقه تمرین داده شدند. پس از سازگاری

در دهه‌های اخیر، با افزایش رشد جمعیت جهانی و ضرورت تأمین میزان کافی از مواد غذایی به‌ویژه محصولات کشاورزی، استفاده از آفت‌کش‌ها جهت مقابله با انواع آفت‌های محصولات کشاورزی و در نتیجه افزایش میزان تولید محصولات به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. به همین منظور، در سال‌های اخیر، انواع مختلفی از آنها برای مقابله با انواع آفت‌ها شامل حشرات، قارچ‌ها، علف‌های هرز و حیوانات موذی تولید و در دسترس قرار گرفته‌اند (۱). یک گروه از آفت‌کش‌های صنعتی بسیار پرکاربرد، آفت‌کش‌های ارگانوفسفات (Organophosphates) هستند که از اواسط دهه ۱۹۴۰ به‌طور گسترده جهت کنترل آفت‌ها توسط کشاورزان مورد استفاده قرار گرفتند و به دلیل سمیت بالا، در کنترل و رفع آفت‌های محصولات کشاورزی بسیار مؤثر عمل می‌کنند (۲). مکانیسم عمل سموم ارگانوفسفات به‌صورت مهار آنزیم استیل کولین استراز (AChE) می‌باشد؛ به‌طوری‌که با غیرفعال شدن این آنزیم، استیل کولین در بدن به‌ویژه محل سیناپس‌های عصبی و اتصالات بین اعصاب و ماهیچه‌ها تجمع یافته و در نتیجه باعث اختلال در عملکرد طبیعی اندام‌های بدن می‌گردد (۳). علاوه بر مهار آنزیم AChE، سموم ارگانوفسفات باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و در نتیجه ایجاد استرس‌های اکسیداتیو در بدن می‌گردند (۴ و ۵). کلرپیریفوس (Chlorpyrifos) با نام اختصاری CPF، یکی از اعضای خانواده آفت‌کش‌های ارگانوفسفات محسوب می‌شود که با نام‌های تجاری Dursban و Lorsban برای استفاده در صنعت کشاورزی در دسترس می‌باشد. تاکنون مطالعات فراوانی بر روی اثرات زیان بار CPF در گونه‌های مختلف جانوری نظیر موش، موش صحرایی، جانداران آبی و نیز در انسان صورت گرفته است (۶ و ۷). همانند دیگر اعضای خانواده آفت‌کش‌های ارگانوفسفات، CPF نیز منجر به ایجاد اختلالات سیستم عصبی، ناهنجاری‌های خونی، نقص در عملکرد سیستم ایمنی، اختلالات باروری و مشکلات تنفسی می‌گردد (۸ و ۹). با توجه به افزایش مصرف CPF به‌عنوان یک آفت‌کش مؤثر و به دنبال آن افزایش مشکلات ناشی از مسمومیت با این سم، راهکارهای مختلفی جهت رفع یا بهبود عوارض ناشی از این مسمومیت مورد بررسی قرار گرفته‌اند که از آن جمله می‌توان به استفاده از ویتامین‌ها و ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی جهت کاهش عوارض ناشی از CPF اشاره کرد (۱۰).

تمرینات هوازی منظم، یکی از راهکارهای مؤثر جهت پیشگیری و بهبود بسیاری از بیماری‌های جسمی و روحی محسوب می‌شود. مطالعات نشان دادند که داشتن فعالیت بدنی و برنامه ورزشی منظم نقش به‌سزایی در بهبود عملکرد اندام‌ها و بافت‌های بدن ایفا می‌کند.

ساخت رشته cDNA از RNA با استفاده از آنزیم نسخه‌بردار معکوس (RT) انجام شد. سپس واکنش real-time PCR با استفاده از دستگاه stepone ABI system برای ژن‌های SP-A و COP-1 انجام و تغییرات بیان ژن‌ها به روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ سنجیده شد. واکنش‌های PCR طبق برنامه دمایی زیر انجام شدند: دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه و مرحله تکثیر شامل ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه در ۴۰ سیکل متوالی انجام شد. آنالیزهای تغییرات بیان ژن با استفاده از نرم‌افزار 3 prism انجام شد.

بررسی فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) برای سنجش فعالیت آنزیم SOD از روش ارایه شده توسط وینتربورن و همکاران (۱۹۷۵) استفاده گردید (۱۵). به طور خلاصه، در یک کووت، به حجم ۵۰۰ میکرولیتر از بافت هموزنه، EDTA 1/0 مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی‌مولار و NBT 5/1 میلی‌مولار اضافه شد و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس ریوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار در بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۶۷ مولار با pH=7/8 اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت. جذب طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت ویژه برحسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

بررسی غلظت مالون دی‌الدهید (MDA) جهت بررسی میزان لیپید پراکسیداسیون غشا سلولی

برای بررسی و تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها (MDA) از روش احمدی و همکاران استفاده شد. ۵۰ میلی‌گرم از بافت هموزنه با ۱/۵ میلی‌لیتر 10% TCA، مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی، ۲ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۶٪ اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار گرفت. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول n- بوتانول به محلول فوق، اضافه و بعد از ورتکس شدید به مدت ۱۵ دقیقه در 4000g سانتریفیوژ شد. جذب محلول رویی صورتی رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. غلظت MDA با استفاده از ۱، ۳، ۳، ۱- تتر- اتوکس پیروپان (به‌عنوان استاندارد) تعیین گردید (۱۶).

روش آماری: تمامی داده‌ها با استفاده از میانگین و انحراف استاندارد توصیف شدند. ابتدا جهت تعیین اثر مسمومیت و حلال سم یا به عبارت بهتر تأیید مسمومیت بر پیامدهای مورد مطالعه گروه کنترل سالم و کنترل مسموم با دوز ۱، کنترل مسموم با دوز ۳ و DMSO با استفاده از تحلیل یک راهه واریانس برای گروه‌های مستقل مورد مقایسه قرار گرفتند. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. پس از آن جهت آزمون فرضیه‌ها و تعیین اثر

با این برنامه تمرینی، تمرینات هوازی با شدت متوسط (سرعت ۱۱ متر در دقیقه) به صورت پنج روز در هفته (روزانه ۱۰ دقیقه) و به مدت دو هفته اجرا شد که به تدریج بر سرعت و زمان تمرینات روزانه افزوده می‌شد به طوری که در نهایت به ۲۰ متر در دقیقه و زمان ۲۶ دقیقه در روز رسید.

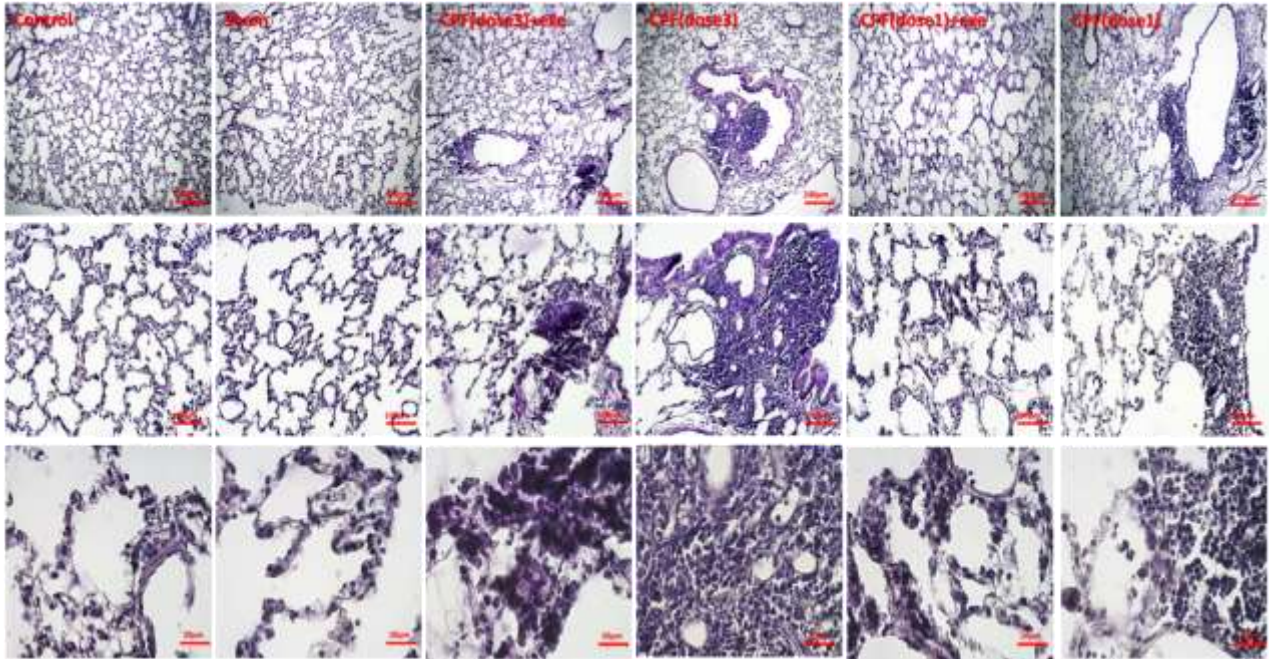
بررسی‌های بافت‌شناسی: به منظور بررسی آسیب‌های بافتی احتمالی در اثر مسمومیت با CPF، ارزیابی‌های بافت‌شناسی به روش رنگ آمیزی پرئودیک اسید شیف (PAS) انجام شد. از روش رنگ‌آمیزی PAS جهت شناسایی پلی‌ساکاریدها (مانند گلیکوژن) و مواد مخاطی (مانند گلیکوپروتئین‌ها، گلیکولیپیدها و موئین‌های موجود در بافت استفاده می‌شود. سلول‌های بافت دارای مقادیر مختلفی از گلیکوژن و مواد مخاطی هستند که تحت تأثیر شرایط پاتولوژیکی و یا تیمارهای مختلف تغییر پیدا می‌کنند. رنگ PAS باعث اکسید شدن گلیکوژن و مواد مخاطی بافتی شده و در اثر این واکنش، ترکیبات آلدیدی ایجاد می‌گردد که در حضور معرف بی‌رنگ شیف (colorless Schiffs) به رنگ صورتی، سرخابی یا قرمز در می‌آیند. لذا از این روش رنگ‌آمیزی می‌توان برای مشاهده تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت‌های مختلف استفاده نمود.

به منظور انجام این رنگ‌آمیزی، موش‌های صحرایی در تمامی گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از کلروفورم بیهوش و سپس کشته شدند. بافت ریه جداسازی شده و در محلول فرمالین ۱۰٪ تثبیت شدند. مرحله آگیری بافت‌های تثبیت شده و سپس قالب‌گیری با پارافین و برش‌گیری با دستگاه میکروتوم انجام شد و برش‌ها روی لام قرار داده شدند. مراحل پارافین‌زدایی در دمای ۹۰ درجه به مدت ۲۰ دقیقه، شفاف‌سازی با زایلون به مدت ۱۰ دقیقه و آبدهی نمونه‌ها انجام شدند. نمونه‌ها آماده شده تحت روش رنگ‌آمیزی پرئودیک اسید شیف (PAS) قرار گرفتند و نهایتاً در زیر یک میکروسکوپ نوری بررسی شدند. تجزیه و تحلیل تصاویر و کمی‌سازی تغییرات بافتی با استفاده از برنامه image J انجام شد.

ارزیابی‌های کمی تغییرات بیان ژن: به منظور بررسی اثرات مسمومیت با CPF بر بیان ژن‌های اختصاصی بافت ریه و همچنین تأثیرات تمرینات هوازی، دو ژن SP-A و COP-1 جهت مطالعات کمی به روش real-time PCR و با استفاده از SYBR Green PCR master mix انتخاب شدند. پرایمرهای دو ژن انتخابی با استفاده از نرم‌افزار gene runner (نسخه ۶/۵) طراحی شدند و ژن B-actin نیز به‌عنوان ژن کنترل داخلی انتخاب گردید. ابتدا استخراج RNA از بافت ریه با استفاده از QIAzol reagent طبق دستورالعمل ارایه شده توسط شرکت کایژن (QIAGEN Inc., Valencia, CA) انجام شد. سپس با استفاده از کیت سنتز cDNA (Thermoscientific, UK) واکنش

تفاوت معنی‌دار، منشاء تفاوت با استفاده از آزمون پیگیری توکی مورد بررسی قرار گرفت. سطح معناداری نیز برای تمام محاسبات ($P > 0.05$) در نظر گرفته شده است. تمام محاسبات با نرم‌افزار SPSS انجام شد.

تمرین بر پیامدهای مورد مطالعه، با استفاده از تحلیل یک راهه واریانس برای گروه‌های مستقل نتایج به‌دست آمده از گروه‌های تمرین مسموم با دوز ۱، تمرین مسموم با دوز ۳، مسموم با دوز ۱ و مسموم با دوز ۳ مورد تحلیل قرار گرفت. در این مدل نیز، در صورت مشاهده



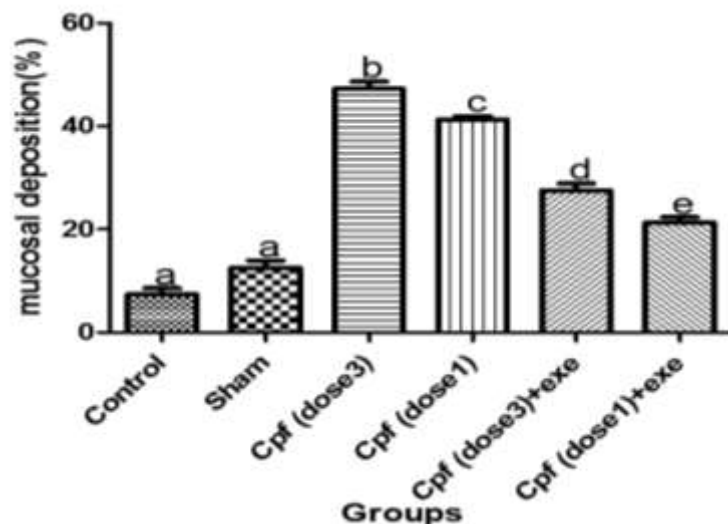
شکل ۱- ارزیابی بافت‌شناسی گروه‌های کنترل مسموم شده با سم CPF و گروه‌های مسموم تمرین دیده از نظر میزان تخریب مخاطی بافت ریه به روش رنگ‌آمیزی PAS
شدت رنگ بیانگر میزان تخریب مخاطی بافت ریه می‌باشد. تصاویر در سه بزرگنمایی ۲۰۰، ۱۰۰ و ۲۰ میکرومتر ارائه شده‌اند. Control: گروه کنترل سالم؛ Sham: گروه کنترل DMSO؛ CPF (dose 3)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۳ سم CPF؛ CPF (dose 3): کنترل مسموم با CPF (دوز ۳)؛ CPF (dose 1)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۱ سم CPF؛ CPF (dose 1): کنترل مسموم با CPF (دوز ۱).

نتایج

نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی به روش PAS نشان داد که میزان تخریب مخاطی بافت ریه در بین گروه‌های کنترل سالم و کنترل مسموم با دوز ۱، کنترل مسموم با دوز ۳ و DMSO تفاوت معنی‌داری وجود دارد (شکل ۱) ($P=0.001$).

میزان تخریب مخاطی بافت ریه در گروه کنترل سالم به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه DMSO ($P=0.001$)، کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0.001$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0.001$) بود. میزان تخریب مخاطی در گروه DMSO به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0.001$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0.001$) بود. میزان تخریب مخاطی در گروه کنترل مسموم با دوز ۱ به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0.001$) بود.

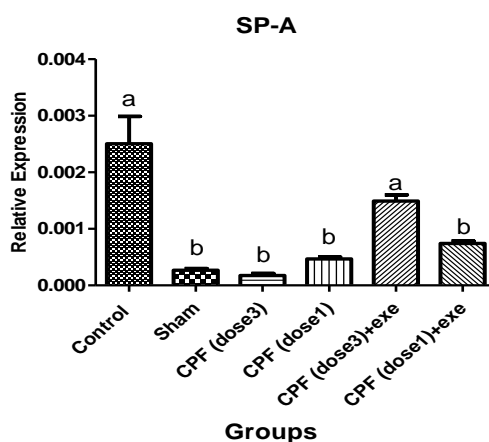
میزان تخریب مخاطی بافت ریه در گروه‌های تمرین مسموم شده با دوز ۱، تمرین مسموم شده با دوز ۳، کنترل مسموم با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0.001$) معنی‌دار نشان داد. میزان تخریب مخاطی بافت ریه در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۱ به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه تمرین مسموم شده با دوز ۳ ($P=0.001$)، کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0.001$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0.001$) بود. همچنین میزان تخریب مخاطی در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۳ به‌طور معنی‌داری کمتر کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0.001$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0.001$) بود. میزان تخریب مخاطی در گروه کنترل مسموم با دوز ۱ به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0.001$) بود (نمودار ۱). همچنین داده‌های مربوط به میزان تخریب بافت مخاطی به روش ONE-WAY ANOVA مورد بررسی قرار گرفت و اطلاعات آن در جدول ۱ ارائه شده است.



نمودار ۱- بررسی کمی میزان تخریب مخاطی بافت ریه در گروه‌های مورد مطالعه میزان تخریب مخاطی بافت ریه در گروه‌های تمرین مسموم شده با دوز ۱ و تمرین مسموم شده با دوز ۳ در مقایسه با به‌ترتیب گروه‌های کنترل مسموم با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۳ کاهش معنی‌داری ($P=0/001$) را نشان داد. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف معیار گزارش شده است. حروف مشابه بیانگر معنی‌دار نبودن داده‌ها بین گروه‌های موردنظر می‌باشد. Control: گروه کنترل سالم؛ Sham: گروه کنترل DMSO؛ CPF (dose 3): گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۳ سم CPF؛ CPF (dose 1): کنترل مسموم با CPF (دوز ۱)؛ CPF (dose 1)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۱ سم CPF؛ CPF (dose 3)+exe: کنترل مسموم با CPF (دوز ۳).

جدول ۱- میزان تخریب مخاطی بافت ریه در گروه‌های مورد مطالعه

	Control	Sham	Cpf (dose3)	Cpf (dose1)	Cpf (dose3)+exe	Cpf (dose1)+exe
	۷/۱۰	۱۰/۲۱	۴۵/۵۰	۴۲/۱۰	۳۰/۰۰	۱۹/۵۰
	۵/۵۰	۱۲/۵۰	۵۰/۰۰	۴۰/۰۰	۲۷/۴۹	۲۱/۲۸
	۹/۶۵	۱۵/۰۰	۴۶/۳۳	۴۱/۸۷	۲۵/۲۰	۲۳/۰۹
Mean	۷/۴۱۷	۱۲/۵۷	۴۷/۲۸	۴۱/۳۲	۲۷/۵۶	۲۱/۳۲
Std. Deviation	۲/۰۹۳	۲/۳۹۶	۲/۳۹۵	۱/۱۵۲	۲/۴۰۱	۱/۷۹۶
Std. Error	۱/۲۰۸	۱/۳۸۳	۱/۳۸۳	۰/۶۶۵۰	۱/۳۸۶	۱/۰۲۸

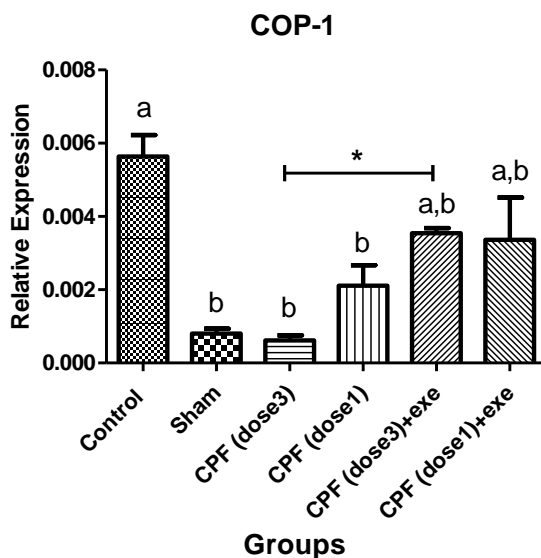


نمودار ۲- بیان ژن SP-A بافت ریه در گروه‌های مورد مطالعه تمرین دیده و کنترل

بیان ژن SP-A در گروه کنترل سالم به طور معنی داری بیشتر از گروه DMSO ($P=0/001$)، کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/001$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/001$) بود. تفاوت معنی داری در بیان این ژن بین گروه DMSO با گروه های کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/310$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/960$) مشاهده نشد. بیان ژن SP-A در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۳ به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/001$) بود. اما بین گروه تمرین مسموم شده با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/117$) اختلاف مشاهده شده معنی دار نبود. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. Control: گروه کنترل سالم؛ Sham: گروه کنترل DMSO؛ CPF (dose 3)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۳ سم CPF؛ CPF (dose 3): کنترل مسموم با CPF (دوز ۳)؛ CPF (dose 1)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۱ سم CPF؛ CPF (dose 1): کنترل مسموم با CPF (دوز ۱).

مسموم با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/176$) مشاهده نشد (نمودار ۳).

پس از انجام تمرینات، بیان ژن COP-1 بافت ریه در گروه های تمرین مسموم شده با دوز ۱، تمرین مسموم شده با دوز ۳، کنترل مسموم با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/001$) معنی دار می باشد. تفاوت معنی داری در بیان ژن COP-1 بافت ریه در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۱ با گروه تمرین مسموم شده با دوز ۳ ($P=0/861$) و گروه کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/944$) مشاهده نشد. اما بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/001$) به طور معنی داری بیشتر بود. تفاوت معنی داری در بیان ژن COP-1 در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۳ با گروه کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/351$) مشاهده نشد ولی بیان این ژن از گروه کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/001$) به طور معنی داری بیشتر بود (نمودار ۳).



نمودار ۳- بیان ژن COP-1 بافت ریه در گروه های مورد مطالعه تمرین دیده و کنترل

بیان ژن COP-1 در گروه کنترل سالم به طور معنی داری بیشتر از گروه DMSO ($P=0/001$)، کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/001$).

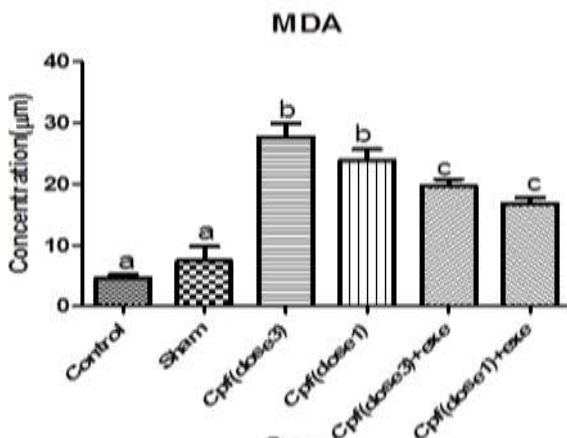
بیان ژن SP-A بافت ریه در گروه های کنترل سالم و کنترل مسموم با دوز ۱، کنترل مسموم با دوز ۳ و DMSO تفاوت معنی داری را نشان داد ($P=0/001$). بیان ژن SP-A بافت ریه در گروه کنترل سالم به طور معنی داری بیشتر از گروه DMSO ($P=0/001$)، کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/001$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/001$) بود. تفاوت معنی داری در بیان این ژن بین گروه DMSO با گروه های کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/310$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/960$) مشاهده نشد. تفاوت معنی داری در بیان ژن SP-A بین گروه های کنترل مسموم با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/138$) مشاهده نشد (نمودار ۲).

پس از انجام تمرینات، بیان ژن SP-A بافت ریه در گروه های تمرین مسموم شده با دوز ۱، تمرین مسموم شده با دوز ۳، کنترل مسموم با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/001$) از تفاوت معنی داری برخوردار بود. بیان ژن SP-A بافت ریه در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۱ تفاوت معنی داری با گروه تمرین مسموم شده با دوز ۳ نداشت ($P=0/926$). بیان این ژن در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۳ به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/034$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/001$) بود. تفاوت معنی داری در بیان ژن SP-A در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۱ با کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/005$) مشاهده نشد ولی در کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/117$) تفاوت معنی داری مشاهده شد. بیان ژن SP-A در گروه کنترل مسموم با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۳ ($0/442$) تفاوت معنی دار مشاهده نشد (نمودار ۲).

بیان ژن COP-1 بافت ریه در گروه های کنترل سالم و کنترل مسموم با دوز ۱، کنترل مسموم با دوز ۳ و DMSO تفاوت معنی داری را نشان داد ($P=0/001$). بیان ژن COP-1 بافت ریه در گروه کنترل سالم به طور معنی داری بیشتر از گروه DMSO ($P=0/001$)، کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/001$)، کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/001$) بود. تفاوت معنی داری در بیان ژن COP-1 در گروه DMSO با کنترل مسموم با دوز ۱ ($P=0/290$) و کنترل مسموم با دوز ۳ ($P=0/989$) مشاهده نشد. تفاوت معنی داری در بیان ژن COP-1 بین گروه کنترل

گروه‌های مسموم بدون تمرین افزایش یافته بود. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. حروف مشابه بیانگر معنی‌دار نبودن داده‌ها بین گروه‌های موردنظر می‌باشد. Control: گروه کنترل سالم؛ Sham: گروه کنترل DMSO؛ CPF (dose 3)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۳ سم CPF؛ CPF (dose 1)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۱ سم CPF؛ CPF (dose 3): گروه کنترل مسموم با دوز ۳ سم CPF؛ CPF (dose 1): گروه کنترل مسموم با دوز ۱ سم CPF؛ CPF (dose 1): گروه تمرین مسموم

تغییرات سطح مالون دی‌آلدهید (MDA) در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۳ و ۱ (P=۰/۰۰۱) به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل و شم بود. پس از انجام تمرینات هوایی، کاهش معنی‌دار سطح MDA در گروه‌های مسموم تمرین دیده در مقایسه با گروه‌های مسموم بدون تمرین مشاهده شد (P=۰/۰۰۱). تغییرات سطح MDA بین گروه‌های کنترل، کنترل مسموم با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۳ (P=۰/۰۲) ارتباط معنی‌داری را نشان دادند. مقایسه گروه کنترل اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است (نمودار ۵).

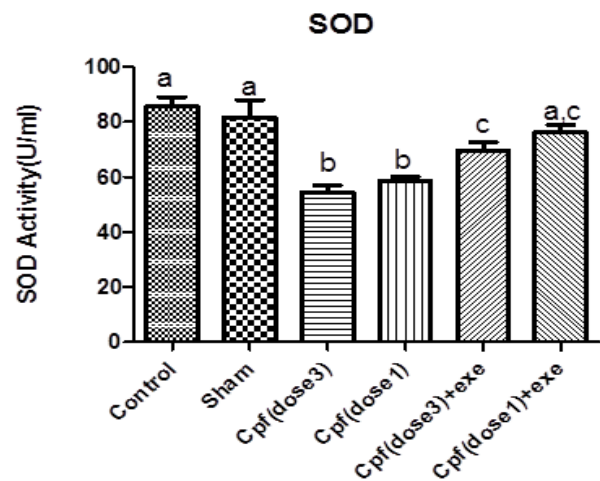


نمودار ۵- تغییرات سطح مالون دی‌آلدهید (MDA) در بافت ریه گروه‌های مختلف پژوهش

سطح MDA در گروه‌های مسموم شده با دوز ۳ و ۱ سم CPF به میزان معنی‌داری افزایش یافته بود. پس از انجام تمرینات هوایی، سطح MDA در گروه‌های مسموم تمرین دیده به میزان معنی‌داری نسبت به گروه‌های مسموم بدون تمرین کاهش یافته بود. اختلاف سطح MDA بین گروه‌های تمرین دیده و کنترل سالم نیز معنی‌دار مشاهده شد. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. حروف مشابه بیانگر معنی‌دار نبودن داده‌ها بین گروه‌های موردنظر می‌باشد. Control: گروه کنترل سالم؛ Sham: گروه کنترل DMSO؛ CPF (dose 3)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۳ سم CPF؛ CPF (dose 3): کنترل مسموم با دوز ۳؛ CPF (dose 1): کنترل مسموم با دوز ۱؛ CPF (dose 1)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۱

کنترل مسموم با دوز ۳ (P=۰/۰۰۱) بود. اما تفاوت معنی‌داری در بیان ژن COP-1 بین گروه‌های DMSO، کنترل مسموم با دوز ۱ (P=۰/۲۹۰) و کنترل مسموم با دوز ۳ (P=۰/۹۸۹) مشاهده نشد. پس از تمرین، بیان ژن COP-1 در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۳ به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل مسموم با دوز ۳ (P=۰/۰۰۱) بود. اما بین گروه تمرین مسموم شده با دوز ۱ و کنترل مسموم با دوز ۱ (P=۰/۰۹۴) اختلاف مشاهده شده معنی‌دار نبود. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. Control: گروه کنترل سالم؛ Sham: گروه کنترل DMSO؛ CPF (dose 3)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۳ سم CPF؛ CPF (dose 3): کنترل مسموم با دوز ۳؛ CPF (dose 1)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۱ سم CPF؛ CPF (dose 1): کنترل مسموم با دوز ۱؛ CPF (dose 1): گروه تمرین مسموم با دوز ۱. * بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بیان ژن COP-1 بین دو گروه مشخص شده می‌باشد.

تغییرات سطح آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) ارتباط معناداری در مقایسه با گروه کنترل و گروه‌های مسموم شده با دوز ۳ و ۱ مشاهده گردید. سطح SOD به‌طور معنی‌داری در گروه‌های مسموم شده در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم کاهش یافته بود. درحالی‌که در گروه‌های مسموم تمرین دیده افزایش معنی‌دار سطح SOD در مقایسه با گروه‌های مسموم با دوز ۳ و ۱ مشاهده شد (P=۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری در تغییرات سطح SOD بافت ریه در گروه تمرین مسموم شده با دوز ۱ با گروه کنترل مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (نمودار ۴).



نمودار ۴- تغییرات سطح آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در بافت ریه گروه‌های مختلف پژوهش

سطح SOD در گروه‌های مسموم شده با دوز ۳ و ۱ سم CPF به میزان معنی‌داری کاهش یافته بود. پس از انجام تمرینات هوایی، سطح SOD در گروه‌های مسموم تمرین دیده به میزان معنی‌داری نسبت به

موش‌های صحرایی مورد مطالعه ایجاد شده و اثرات آن بر ساختار بافت ریه و همچنین بیان ژن‌های اختصاصی بافت ریه شامل SP-A و COP-1 بررسی گردید. سورفکتانت پروتئین A1 (Surfactant protein A1) پروتئینی است که در انسان توسط ژن «SFTPA1» کُدگذاری شده و بیشتر در سلول‌های نوع ۲ کیسه‌های هوایی در ریه‌ها ساخته می‌شود و جزئی از سورفکتانت ریوی محسوب می‌گردد. یکی از وظایف این مولکول، کاهش کشش سطحی در کیسه‌های هوایی، جهت جلوگیری از فروخوابیدگی ریه‌ها در جریان بازدم است. تغییر در ترکیب سورفکتانت ریوی، عملکرد آنرا تغییر داده و موجب بیماری تنفسی می‌شود. این پروتئین همچنین جزیی از کمپلکس سیستم ایمنی ذاتی بوده و در تعدیل دستگاه ایمنی ذاتی و فرایند التهاب نقش دارد (۲۵ و ۲۶). با توجه به نقش مهم این ژن در عملکرد بافت ریه، تغییرات بیان آن در بیماری‌های تنفسی مختلف می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر بیولوژیکی در نظر گرفته شود (۲۷). همچنین، ژن COP-1، یک یوبی کوئیتین لیگاز است که در بسیاری از فرآیندهای مهم سلولی نظیر تکثیر سلولی، آپوپتوز و ترمیم DNA نقش دارد. پروتئین کد شده توسط این ژن همچنین با یوبی کوئیتین و در نتیجه تجزیه کردن بسیاری از فاکتورهای انکوژنی به‌عنوان یک مهارکننده توموری نیز عمل می‌کند. در بافت ریه، مطالعات نشان دادند که بیان ژن COP-1 در فرآیند تشکیل انشعابات مجاری تنفسی ریوی نقش مهمی دارد به‌طوری‌که هرگونه اختلال در بیان و عملکرد این ژن منجر به متوقف شدن انشعاب‌زایی ریوی و بروز آسیب‌های پاتولوژیکی بافت ریه می‌گردد (۲۸). همچنین در راستای دیگر مطالعات انجام شده، مطالعه حاضر نیز نشان داد مسمومیت با CPF باعث افزایش سطح شاخص‌های اکسیداتیوی نظیر MDA و از طرف دیگر کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیوی نظیر سوپراکسید دیسموتاز می‌گردد. در مرحله بعدی مطالعه، اثر ورزش‌های هوایی بر کاهش عوارض ناشی از مسمومیت با CPF مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از تست‌های بافت شناسی نشان دادند که تحت تاثیر تیمار با هر دو دوز CPF میزان ترشحات موکوسی در بافت ریه به‌طور معنی‌داری نسبت به هر دو گروه کنترل سالم و DMSO افزایش یافته بود که این امر بیانگر افزایش تخریب مخاطی بافت ریه در اثر مسمومیت با CPF می‌باشد و طبق مطالعات صورت گرفته این تغییرات بافتی در اثر استمرار مواجهه با CPF می‌تواند خطر بروز سرطان ریه را افزایش دهد (۲۹). بیشتر در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده بود که ترکیب CPF منجر به ایجاد تغییرات موفولوژیکی و ساختاری بارزی در بافت‌های مختلف بدن از جمله کلیه می‌گردد (۳۰). از طرف دیگر، نتایج حاصل از بررسی‌های بافتی پس از انجام تمرینات ورزشی نشان داد که میزان تخریب مخاطی بافت در گروه‌های تمرین مسموم با دوز ۱ و ۳ به‌طور

(dose 1)+exe: گروه تمرین دیده مسموم با دوز ۱ سم CPF: CPF (dose 1): کنترل مسموم با CPF (دوز ۱).

بحث

کلریپیریفوس (CPF)، رایج‌ترین و پرکاربردترین آفتکش از خانواده ارگانوفسفاتها بوده که به‌دلیل مصرف بالا و همچنین ساختار نسبتاً پایداری که دارد، ماندگاری بالایی در اکوسیستم داشته و بقایای آن در منابع طبیعی مختلف شامل آب، خاک و هوا ردیابی شده است (۱۷ و ۱۸). از این رو، مواجهه انسان یا دیگر جانداران با هر یک از این منابع آلوده می‌تواند خطر مسمومیت با CPF را افزایش داده و عوارض ناشی از این مسمومیت را در پی داشته باشد. لذا آلودگی منابع طبیعی به CPF و افزایش نرخ مسمومیت‌های ناشی از آن در بین افراد جوامع مختلف به یک نگرانی مهم جهانی تبدیل شده است (۱۹ و ۲۰). تاکنون مطالعات فراوانی در زمینه اثرات زیان بار ترکیب CPF بر روی بافت‌های مختلف بدن صورت گرفته است. در یک مطالعه، وانگ و همکاران نشان دادند که تجمع CPF و دیگر ترکیبات ارگانوفسفاتها در بدن ماهی کپور می‌تواند منجر به آسیب‌های بافتی در بافت‌های طحال و کلیه گردد (۲۱). در مطالعه ای دیگر، Ping Ma و همکارانش نشان دادند که مسمومیت با CPF در موش‌ها بواسطه ایجاد استرس‌های اکسیداتیو شدید منجر به آسیب‌ها و تغییرات بافتی در بافت‌های کبد و کلیه می‌گردد (۲۲). با توجه به تأثیرات شدید مسمومیت با CPF بر روی بافت‌های مختلف بدن و بروز بیماری‌های حاد و مزمن، دانشمندان بر آن شدند تا اثر ترکیبات گوناگون طبیعی یا سنتزی بر بهبود عوارض ناشی از CPF در بدن را بررسی کنند. در سال ۲۰۱۰، ماریون اریچ و همکاران، از ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی به نام فولرن‌ها (Fullerenes) جهت مقابله با اثرات سموم OP استفاده کردند. نتایج آنها نشان داد که ترکیبات فولرن با فعال کردن آنزیم استیل کولین استراز (AChE) منجر به کاهش عوارض ناشی از سمیت OP می‌گردند (۲۳). در مطالعه‌ای دیگر، حسنی و همکاران به بررسی اثرات کورکومین (Curcumin) که ماده مؤثره ادویه زردچوبه بوده و از خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی برخوردار می‌باشد، و همچنین اثرات ویتامین E بر روی آسیب‌های ناشی از OP پرداختند. نتایج آنها بیانگر آن بود که پس از تیمار با کورکومین و ویتامین E، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در موش‌های مسموم شده با CPF به میزان معنی‌داری افزایش یافته و سطح پراکسیداسیون لیپیدها کاهش یافت. نتایج آنها همچنین نشان داد که آسیب‌های بافتی ناشی از OP، پس از تیمار با کورکومین و ویتامین E به میزان قابل توجهی بهبود یافت (۲۴). در مطالعه حاضر، ابتدا مسمومیت با دو دوز مختلف CPF بر روی چهار گروه از

سازمانی حمایت مالی دریافت نگریده است و تمامی هزینه‌های اجرایی این طرح توسط نویسندگان تأمین گردید.

References

1. Aktar MW, Sengupta D, Chowdhury A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdiscip Toxicol* 2009;2:1-12. doi:10.2478/v10102-009-0001-7
2. Costa LG. Current issues in organophosphate toxicology. *Clinica Chimica Acta* 2006;366:1-13. doi:https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.10.008
3. Robb EL. BM. Organophosphate Toxicity. StatPearls [Internet], StatPearls Publishing 2019.
4. Muñoz-Quezada MT, Lucero BA, Iglesias VP, Muñoz MP, Cornejo CA, Achu E, et al. Chronic exposure to organophosphate (OP) pesticides and neuropsychological functioning in farm workers: a review. *International journal of occupational and environmental health* 2016;22:68-79. doi:10.1080/10773525.2015.1123848
5. Pearson JN, Patel M. The role of oxidative stress in organophosphate and nerve agent toxicity. *Ann N Y Acad Sci* 2016;1378:17-24. doi:10.1111/nyas.13115
6. Farag AT, El Okazy AM, El-Aswed AF. Developmental toxicity study of chlorpyrifos in rats. *Reproductive Toxicology* 2003;17:203-8. doi:10.1016/S0890-6238(02)00121-1
7. Nahid Akhtar MKS, R.B. Raizada. Assessment of chlorpyrifos toxicity on certain organs in rat, *Rattus norvegicus*. *Journal of Environmental Biology* 2009.
8. Joshi SC, Mathur R, Gulati N. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicology and Industrial Health* 2007;23:439-44. doi:10.1177/0748233707080908
9. Naughton SX, Terry AV, Jr. Neurotoxicity in acute and repeated organophosphate exposure. *Toxicology* 2018;408:101-12. doi:10.1016/j.tox.2018.08.011
10. Chidiebere Uchendu SFAAJOA. The organophosphate, chlorpyrifos, oxidative stress and the role of some antioxidants: A review. *African Journal Of Agricultural Research* 2012;7:2720-8.
11. Broman-Fulks JJ, Berman ME, Rabian BA, Webster MJ. Effects of aerobic exercise on anxiety sensitivity. *Behaviour Research and Therapy* 2004;42:125-36. doi:10.1016/S0005-7967(03)00103-7
12. Karacabey K. Effect of regular exercise on health and disease. *Neuro endocrinology letters* 2005;26:617-23.
13. Radak Z, Torma F, Berkes I, Goto S, Mimura T, Posa A, et al. Exercise effects on physiological function during aging. *Free Radical Biology and Medicine* 2019;132:33-41. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.444
14. Freire Machi J, Schmidt R, Salgueiro LM, Fernandes Stoyell-Conti F, de Andrade Barboza C, Hernandez DR, et al. Exercise benefits the cardiac, autonomic and inflammatory responses to organophosphate toxicity. *Toxicology Reports* 2019;6:666-73. doi:10.1016/j.toxrep.2019.06.015
15. Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1975;85:337-41. doi:
16. Ahmadi S, Jafari M, Asgari AR, Salehi M. Acute effect of diazinon on the antioxidant system of rat's heart tissue. *Kowsar Medical Journal* 2011;16:87-93.
17. Hallal N, El Khayat El Sabbouri H, Salami A, Ramadan W, Khachfe H, Moustafa ME, et al. Impacts of prolonged chlorpyrifos exposure on locomotion and slow-and fast- twitch skeletal muscles contractility in rats. *Toxicology Reports* 2019;6:598-606. doi:10.1016/j.toxrep.2019.06.006

معناداری نسبت به گروه‌های کنترل مسموم با دوز ۱ و ۳ کاهش یافته است که این امر بیانگر اثرات مثبت ورزش و تمرینات هوازی بر کاهش عوارض ناشی از CPF در بافت ریه می‌باشد. در همین راستا، ما در مطالعه قبلی خود نشان دادیم که انجام ورزش‌های هوازی نقش قابل توجهی در کاهش استرس‌های اکسیداتیو ناشی از CPF در بافت بیضه موش‌های صحرائی مسموم شده ایفا می‌کند (۳۱). در این مطالعه نیز مشاهده شد که انجام تمرینات هوازی در کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی بافت ریه گروه‌های مسموم تمرین دیده نقش مؤثری دارد. علاوه براین، نتایج حاصل از بررسی تغییرات بیان ژن به روش qPCR نشان دادند که بیان ژن‌های SP-A و COP-1 در گروه سالم به‌طور معنی‌داری از گروه‌های کنترل مسموم با دوز ۱ و ۳ بیشتر بود اما تفاوت معنی‌داری در بیان این ژن‌ها بین گروه‌های کنترل مسموم با دوز ۱، ۳ و گروه DMSO مشاهده نشد. در یک مطالعه که در سال ۲۰۲۱ توسط شیخ و همکاران انجام شد، به خوبی نشان داده شده است که مواجهه موش‌ها با سم کلرپیریفوس به تنهایی یا در ترکیب با سم کیپرترین باعث آسیب شدید بافت ریه می‌گردد که این آسیب از طریق اختلال در بیان ژن‌هایی از جمله *Fau*, *Rps27*, *Fth1*, *Rplp0*, *Atp5g2*, *Cox6a1*, *Tpt1*, *Hint1* و *Sftpd* صورت می‌گیرد (۳۲). در مطالعه حاضر، با توجه به معنادار نبودن کاهش بیان ژن SP-A و COP-1 در گروه‌های مسموم و گروه DMSO، به‌نظر می‌رسد کاهش بیان مشاهده شده ناشی از مسمومیت با CPF نبوده و ممکن است به‌دلیل آسیب ناشی از DMSO بوده باشد. با این وجود، نتایج مربوط به انجام تمرینات هوازی نشان داد که بیان هر دو ژن SP-A و COP-1 در گروه‌های تمرین دیده نسبت به گروه کنترل مربوط به خود به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است که این نتایج بیانگر نقش مؤثر تمرینات هوازی در تنظیم بیان ژن‌های SP-A و COP-1 بود.

به‌عنوان نتیجه‌گیری، نتایج حاصل از این مطالعه نشان دادند که انجام تمرینات هوازی می‌تواند از طریق کاهش استرس‌های اکسیداتیو القا شده در اثر مسمومیت با سمومی نظیر CPF یا دیگر ترکیبات سمی در کاهش آسیب‌های بافتی ناشی از استرس‌های اکسیداتیو و تنظیم بیان ژن‌های اختصاصی بافتی نقش قابل توجهی داشته باشد. هرچند، نوع برنامه تمرینی موردنظر و شدت و مدت زمان اجرای آن می‌تواند در نتایج حاصل بسیار تأثیرگذار باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمام زحمات اساتید دانشگاه آزاد واحد تهران مرکز و کارشناسان آزمایشگاه که در بخش تکنیکی در اجرای این پژوهش یاری‌رساندن قدردانی می‌شود. برای انجام این تحقیق، از هیچ نهاد یا

18. Kwong TC. Organophosphate Pesticides: Biochemistry and Clinical Toxicology. *Therapeutic Drug Monitoring* 2002;24.
19. Huang X, Cui H, Duan W. Ecotoxicity of chlorpyrifos to aquatic organisms: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2020;200:110731. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.110731
20. R Bhat MK, DK Mansotra. A systematic review on global environmental risks associated with pesticide application in agriculture. *agriculture and environmental science academy* 2019.
21. Wang X, Xing H, Jiang Y, Wu H, Sun G, Xu Q, et al. Accumulation, histopathological effects and response of biochemical markers in the spleens and head kidneys of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos. *Food and Chemical Toxicology* 2013;62:148-58. doi:10.1016/j.fct.2013.08.044
22. Ma P, Wu Y, Zeng Q, Gan Y, Chen J, Ye X, et al. Oxidative damage induced by chlorpyrifos in the hepatic and renal tissue of Kunming mice and the antioxidant role of vitamin E. *Food and Chemical Toxicology* 2013;58:177-83. doi:10.1016/j.fct.2013.04.032
23. Ehrich M, Van Tassell R, Li Y, Zhou Z, Kepley CL. Fullerene antioxidants decrease organophosphate-induced acetylcholinesterase inhibition in vitro. *Toxicology in Vitro* 2011;25:301-7. doi:10.1016/j.tiv.2010.09.010
24. Hassani S, Sepand MR, Jafari A, Jaafari J, Rezaee R, Zeinali M, et al. Protective effects of curcumin and vitamin E against chlorpyrifos-induced lung oxidative damage. *Human & Experimental Toxicology* 2014;34:668-76. doi:10.1177/0960327114550888
25. Floros J, Hoover RR. Genetics of the hydrophilic surfactant proteins A and D. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1998;1408:312-22. doi:10.1016/S0925-4439(98)00077-5
26. Thorenoor N, Kawasawa YI, Gandhi CK, Zhang X, Floros J. Differential Impact of Co-expressed SP-A1/SP-A2 Protein on AM miRNome; Sex Differences. *Frontiers in Immunology* 2019;10. doi:10.3389/fimmu.2019.01960
27. Ley B, Brown KK, Collard HR. Molecular biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2014;307:L681-91. doi:10.1152/ajplung.00014.2014
28. Zhang Y, Yokoyama S, Herriges JC, Zhang Z, Young RE, Verheyden JM, et al. E3 ubiquitin ligase RFWD2 controls lung branching through protein-level regulation of ETV transcription factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2016;113:7557. doi:10.1073/pnas.1603310113
29. Kangkhetkron T, Juntarawijit C. Pesticide exposure and lung cancer risk: A case-control study in Nakhon Sawan, Thailand [version 1; peer review: 1 approved with reservations]. *F1000Research* 2020;9. doi:10.12688/f1000research.24114.1
30. Rekha R, Raina S, Hamid S. Histopathological effects of pesticide-cholopyrifos on kidney in albino rats. *International Journal of Research in Medical Sciences* 2013;1:465. doi:10.5455/2320-6012.ijrms20131131
31. Nikbin S, Derakhshideh A, Karimi Jafari S, Mirzahamedani A, Moslehi A, Ourzamani S, et al. Investigating the protective effect of aerobic exercise on oxidative stress and histological damages of testicular tissue associated with chlorpyrifos in male rats. *Andrologia* 2020;52:e13468. doi:10.1111/and.13468
32. islam S, Sethi RS. Differential gene expression profile of mice lung following chronic dietary exposure to chlorpyrifos and/or cypermethrin. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2021;9:140-5.



The Effect of Aerobic Exercise and Chlorpyrifos Toxin on the Expression of Spa, Cop1 Genes and Lung Tissue in Male Rats

Ramin Fallah (Ph.D. Student)¹, Hassan Matin Homaei (Ph.D.)^{2*}, Saleh Rahmati Ahmadabad (Ph.D.)³

1. Dept. of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Dept. of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3. Dept. of Physical Education, Pardis branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 5 April 2021, Accepted: 16 December 2021

Abstract:

Introduction: Due to the severe side effects of using or exposure to chlorpyrifos toxin (CPF) on the lungs and respiratory system, in this study, the effects of aerobic exercise on improving the effects of CPF poisoning on the level of lung tissue changes and gene expression in Rats were examined.

Methods: Sixteen Wistar rats were divided into 6 groups: healthy control, dose 1-poisoned control group, dose 3- poisoned control group, dose 1-poisoned training group, dose 3-poisoned training group, and DMSO control. CPF was injected intraperitoneally in two different doses to the target groups. After intoxication, exercise was given to the target groups according to a specific exercise program. Histological assessments, evaluation of oxidative stress markers (SOD and MDA), and expression changes of Spa and Cop-1 genes in all study groups were performed.

Results: Results from histological evaluations showed that the rate of mucosal destruction of lung tissue was increased in the control groups poisoned by dose 1 and dose 3 of CPF ($P=0.001$). SOD and MDA levels were reduced and enhanced, respectively, in poisoned control groups. After aerobic exercise, the severity of tissue damage was significantly reduced. SOD and MDA levels were significantly increased and decreased, respectively, in trained groups. At the molecular level, it was also observed that the expression of Spa and Cop-1 genes in the CPF-poisoned control group was significantly reduced, which increased significantly compared to the control groups after aerobic exercise.

Conclusion: According to the results of this study, aerobic exercise seems to play an effective role in reducing tissue damage due to oxidative stress and regulating the expression of tissue-specific genes by reducing oxidative stress induced by CPF.

Keywords: Organophosphate pesticides, Chlorpyrifos, Aerobic exercise, Lung tissue, Spa, Cop-1.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: H. Matin Homaei, Email: hasanmatinhomaei@gmail.com

Citation: Fallah R, Matin Homaei H, Rahmati Ahmadabad S. The effect of aerobic exercise and chlorpyrifos toxin on the expression of Spa, Cop1 genes and lung tissue in male rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2022;16(4):17-27.