

The Effects of Moderate-Intensity Continuous Training (MICT) and Berberine Supplementation (BB) on Ketamine-Induction Ferroptosis in Testicular Tissue of Wistar Rats: Emphasis on the Xc/GSH/GPX Signaling Pathway

Mahsa Ehsanifar, Asghar Tofighi*, Javad Tolouei Azar

Department of Exercise Physiology and Corrective Exercises, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

Background and Objective: Long-term consumption of ketamine can result in adverse changes in biological tissues, including the testicles, as well as disruptions in the ferroptosis process. The primary strategy for addressing these effects involves discontinuing ketamine use and adopting nutritional interventions, supplementation, and exercise. Therefore, the present study aims to investigate the effects of ketamine withdrawal, ketamine withdrawal combined with moderate-intensity continuous training (MICT), ketamine withdrawal accompanied by berberine supplementation (BB), and ketamine withdrawal combined with the MICT+BB on certain indices related to testicular ferroptosis in Wistar rats following chronic exposure to ketamine.

Materials & Methods: In this experimental study, 36 rats were randomly assigned to six groups, each consisting of six rats: 1) control, 2) ketamine, 3) ketamine withdrawal, 4) ketamine withdrawal + BB, 5) ketamine withdrawal + MICT, and 6) ketamine withdrawal + BB + MICT. Rats in the intervention groups were administered ketamine at a dose of 100 mg per kilogram of body weight for 8 weeks. Following this period, ketamine injection was halted for all groups. Rats in the MICT groups exercised at an intensity of 65-70% of their maximum speed, while those in the BB supplementation groups received a dosage of 50 mg per kilogram of body weight for an additional 8 weeks. Levels of iron (Fe), glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GPX), and malondialdehyde (MDA), as well as the expression of ferritin heavy chain (Fth), ferroportin (Fpn), iron-regulating transferrin receptor (Tfr1), and solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11) were assessed. A one-way analysis of variance (ANOVA) was employed for intergroup comparisons, and Tukey's post hoc test was used to identify differences among groups.

Results: Ketamine administration resulted in increased levels of Fe, MDA, and Tfr1, while decreasing levels of GSH and GPX. In the ketamine withdrawal + BB and ketamine withdrawal + MICT groups, the levels of GPX, SLC7A11, GSH, and Fpn significantly increased, in contrast to the reductions in MDA and Tfr1. Ultimately, the combined group (ketamine withdrawal + BB + MICT) exhibited the most substantial improvement in these indices ($p < 0.05$).

Conclusion: In summary, ketamine appears to increase oxidative stress and induce ferroptosis in the testicular tissue. Conversely, MICT and BB supplementation, both independently and synergistically (MICT + BB), can significantly ameliorate oxidative stress and the indices of testicular ferroptosis in male Wistar rats following chronic ketamine exposure. Overall, the results suggest a certain degree of synergistic effect from the MICT + BB combination. However, both BB and MICT independently can also effectively reduce the damage caused by oxidative stress and testicular ferroptosis.

Keywords: Testicle, Berberine, Exercise training, Ferroptosis, Ketamine.

How to cite this article: Ehsanifar M, Tofighi A, Tolouei Azar J. The Effects of Moderate-Intensity Continuous Training (MICT) and Berberine Supplementation (BB) on Ketamine-Induction Ferroptosis in Testicular Tissue of Wistar Rats: Emphasis on the Xc/GSH/GPX Signaling Pathway. *J Sport Exerc Physiol.* 2025;18(1):1-?.

* Corresponding Author's E-mail: a.tofighi@urmia.ac.ir

[https://doi.org/ 10.48308/joeppa.2024.236808.1293](https://doi.org/10.48308/joeppa.2024.236808.1293)

Received: 06/09/2024

Revised: 18/10/2024

Accepted: 10/11/2024

Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

نسخه پیش انتشار

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی

۱۴۰۴، دوره ۱۸، شماره ۱

تأثیر تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) و مکمل یاری بربرین (BB) بر فروپتوز ناشی از کتامین در بافت بیضه رت‌های ویستار: با تأکید بر مسیر پیام‌رسانی Xc/GSH/GPX

مهسا احسانی‌فر، اصغر توفیقی*، جواد طلوعی‌آذر

گروه فیزیولوژی ورزشی و حرکات اصلاحی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

زمینه و هدف: مصرف طولانی‌مدت کتامین می‌تواند به تغییرات منفی در بافت‌های بیولوژیکی، از جمله بیضه و اختلال در فرایند فروپتوز منجر شود. نخستین استراتژی برای مقابله با این آثار، ترک کتامین و اتخاذ روش‌های تغذیه‌ای، مکمل‌یاری و تمرین ورزشی است. بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر ترک کتامین، ترک کتامین همراه با تمرین ورزشی با شدت متوسط (MICT)، ترک کتامین همراه با مکمل‌یاری بربرین (BB) و ترک کتامین همراه با ترکیب MICT+BB بر برخی شاخص‌های مرتبط با فروپتوز بافت بیضه رت‌های ویستار پس از مواجهه مزمن با کتامین است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۳۶ رت به‌طور تصادفی به شش گروه شش‌تایی تقسیم شدند: (۱) کنترل، (۲) کتامین، (۳) کتامین/ترک، (۴) کتامین/ترک+BB، (۵) کتامین/ترک+MICT و (۶) کتامین/ترک+MICT+BB. رت‌های گروه‌های مداخله به مدت ۸ هفته کتامین را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. پس از این دوره، تزریق کتامین در تمام گروه‌ها متوقف شد. سپس، رت‌های گروه‌های دارای MICT با شدت ۶۵-۷۰ درصد حداکثر سرعت و گروه‌های دارای مکمل BB با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته تمرین و مکمل‌یاری شدند. مقادیر آهن (Fe)، محتوای گلوتاتیون (GSH)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و مالون د آلدئید (MDA)، و بیان زنجیره سنگین فریتین (Fth)، فروپوریتین (Fpn)، ترانسفرین واردکننده آهن (Tfr1) و عضو ۱۱ از خانواده ۷ انتقال‌دهنده‌های محلول (SLC7A11) ارزیابی شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) برای مقایسه بین گروهی و جهت تعیین اختلاف در گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

نتایج: تزریق کتامین باعث افزایش مقادیر Fe، MDA، Tfr1 و کاهش مقادیر GSH و GPX شد. در گروه کتامین/ترک+BB و گروه کتامین/ترک+MICT مقادیر شاخص‌های GPX، SLC7A11، GSH و Fpn به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در حالی که مقادیر MDA و Tfr1 کاهش یافت. در نهایت، در گروه ترکیبی (کتامین/ترک+BB+MICT) بیشترین مقدار بهبودی در همین شاخص‌ها مشاهده شد ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: در مجموع می‌توان گفت که کتامین باعث افزایش استرس اکسایشی و القاء فروپتوز بافت بیضه می‌شود. در مقابل، MICT و مکمل‌یاری BB به‌طور مستقل و توأمان (MICT+BB) می‌تواند اثرات بهبودبخش بارزی بر کاهش استرس اکسایشی و شاخص‌های فروپتوز بافت بیضه رت‌های نر ویستار متعاقب مواجهه مزمن با کتامین داشته باشد. به‌طور کلی، نتایج حاکی از آن است که تا حدودی ترکیب MICT+BB دارای اثر هم‌افزایی است. با این حال، BB و MICT به تنهایی نیز می‌توانند به‌طور موثری آسیب‌های ناشی از استرس اکسایشی و فروپتوز بافت بیضه را کاهش دهند.

واژه‌های کلیدی: بیضه، بربرین، فعالیت ورزشی، فروپتوز، کتامین.

نحوه استناد به این مقاله احسانی‌فر م، توفیقی ا، طلوعی‌آذر ج. تأثیر تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) و مکمل‌یاری بربرین (BB) بر فروپتوز ناشی از کتامین در بافت بیضه رت‌های ویستار: با تأکید بر مسیر پیام‌رسانی Xc/GSH/GPX. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۴؛ ۱۸(۱): ۱-۴.

*رایانامه نویسنده مسئول: a.tofghi@urmia.ac.ir

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰/۰۸/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۱۵

نسخه پیش انتشار

مقدمه

کتامین یک داروی ضد درد و ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAID) است که در پزشکی کاربردهای گوناگونی دارد؛ علاوه بر کاهش درد و التهاب، در جراحی‌های بزرگ نیز جهت ایجاد بی‌هوشی طولانی مدت و عمیق به کار می‌رود (۱). با وجود این، امروزه در جوامع عمومی و به‌ویژه در میان جوانان به دارویی تفریحی تبدیل شده است. در این راستا، معلوم شده است که سوء مصرف کتامین برای سلامتی بسیار خطرناک است و می‌تواند منجر به مشکلات جدی بهداشتی و اجتماعی شود. همچنین، دسترسی و استفاده تفریحی از این دارو از سال ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۹ به‌طور مداوم افزایش یافته است (۲). استفاده غیرمعمول کتامین می‌تواند با چندین ساز و کار بیولوژیکی از جمله به عملکرد مغز، قلب، کبد، دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی مردانه - انسان و حیوان - آسیب برساند (۳، ۴). در این راستا، آثار منفی کتامین ممکن است از طریق استرس اکسایشی، التهاب، اختلال آپوپتوزی و تغییرات متابولیسم سلولی میانجی‌گری شود (۵). با وجود این، مطالعات محدودی درباره آثار بلند مدت کتامین بر عملکرد تولید مثلی وجود دارد (۶). در این راستا، نشان داده شده است که تجویز شش هفته‌ای کتامین منجر به کاهش معنی‌دار قطر لوله‌های منی‌ساز، قطر لومن و ارتفاع اپیتلیوم موش‌ها می‌شود و آثار منفی بارزی بر پارامترهای اسپرم (تعداد، تحرک و مورفولوژی) دارد (۶). به‌ویژه، تأثیر کتامین بر فرآیند فروپتوز - مسیری جدید از مرگ سلولی غیر آپوپتوزی وابسته به آهن - بافت بیضه همچنان نامعلوم باقی مانده است.

فروپتوز، شکل جدیدی از مرگ سلولی غیر آپوپتوزی است که از طریق سازوکار وابسته به آهن با تغییر اکسیداتیو غشاهای فسفولیپیدی مشخص می‌شود (۷). ماهیت فروپتوز تجمع پراکسیدهای لیپید غشایی به دلیل افزایش قابل توجه محتوای آهن است و تجمع غیر طبیعی آهن به عنوان یکی از مشخصه‌های القاء فروپتوز در نظر گرفته می‌شود. همچنین، گیرنده ترانسفرین واردکننده آهن (Tfr1) به‌عنوان محرک فروپتوز شناخته می‌شود، می‌تواند آهن بسیار زیادی به درون سلول منتقل کند. فروپورتین (Fpn)، تنها ناقل شناخته شده برای آهن، به عنوان خارج کننده آهن به فضای خارج سلولی عمل می‌کند (۸). زنجیره سنگین فریتین (Fth) - به عنوان فریتین اصلی - مسئول تبدیل Fe^{2+} به Fe^{3+} است (۸). با این حال، با نگاهی دقیق‌تر به مسیرهای پیام‌رسانی فرآیند فروپتوز عمدتاً با سه مسیر مواجه می‌شویم: ۱. محور GSH-GPX، ۲. محور FSP1-CoQ10 و ۳. محور GCH1-BH4. در این میان، محور GPX4-GSH مسیر اصلی در کنترل فروپتوز است (۹). در بالا دست این محور، سیستم Xc قرار دارد. این سیستم، آنتی‌پورته اسید آمینه‌ای و سیستم ضد اکسایشی مهم درون سلولی است و با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی، می‌تواند سلول‌ها را در برابر فروپتوز محافظت کند (۱۰). در این بین، عضو ۱۱ از خانواده ۷ انتقال‌دهنده‌های محلول (SLC7A11) زیر واحد اصلی سیستم Xc است (۱۱) و زمانی که فعالیت آنتی‌پورته SLC7A11 در سیستم Xc مهار (تنظیم‌کاهشی) شود، فروپتوز القا می‌شود (۱۲). در این راستا، با مهار SLC7A11 تبادل گلوتامات/سیستئین دچار نقص می‌شود و در این وضعیت فعالیت گلوتاماتین (GSH) مهار می‌شود (۱۲). GSH یکی از سیستم‌های ضد اکسایشی است که ROS را مهار می‌کند. با مهار فعالیت GSH، میزان ROS تولید شده زیاد می‌شود. همچنین، به دنبال مهار فعالیت GSH، فعالیت گلوتاماتین پراکسیداز (GPX) نیز مهار خواهد شد و بدین ترتیب با کاهش فعالیت GPX و افزایش Fe^{2+} میزان پراکسیداسیون لیپیدی افزایش می‌یابد و متعاقب آن احتمالاً فروپتوز القا خواهد شد.

در راستای مقابله با آثار نامطلوب عوامل پاتولوژیکی گوناگون، علاوه بر ترک عوامل آسیب‌زا، احتمالاً بتوان مداخلات تغذیه‌ای و فعالیت‌های ورزشی را در خط نخست قرار داد (۱۳-۱۶). در این بین، بربرین (به اختصار BB) ترکیبی است که به‌طور طبیعی در بسیاری از گیاهان (به‌ویژه در زرشک) یافت می‌شود و فواید بالقوه‌ای برای سلامتی دارد. در این راستا، نشان داده شده است که BB با کاهش تجمع ROS داخل سلولی و سرکوب پراکسیداسیون لیپیدی از فروپتوز ناشی شده از ارسنتین و RSL3 (مهارگر GPX) در سلول‌های قلبی جلوگیری می‌کند و به بقای سلولی کمک می‌کند (۱۷). علاوه بر این، با استفاده از مدل‌های حیوانی (موش) و انسانی فواید تمرین ورزشی بر سیستم اندوکرین بیضه‌ای، آپوپتوز و فرآیند اسپرم‌زایی (۱۸)، وضعیت ضد اکسایشی (۱۹) و کیفیت مایع منی

(۲۰) نشان داده شده است. معلوم شده است که تمرین با شدت متوسط (MICT)، وضعیت ضد اکسایشی بافت بیضه را با تنظیم-افزایشی مقادیر GPX، گلو تاتیون، SOD و CAT بهبود می بخشد (۱۹) و با افزایش بیان عوامل ضد آپوپتوزی و تنظیم کاهشی بیان عوامل پیش آپوپتوزی منجر به بقاء سلول های بیضه می شود (۱۸). با مطالعه روی بافت مغز نشان داده است که تمرین ورزشی می تواند اضافه بار آهن را با افزایش بیان Fth و Fpn و کاهش میزان Tfr1 معکوس کند، که شواهد قدرتمندی برای اثرات ضد فریپتوزی حاصل از تمرین ورزشی پس از آسیب مغزی است (۲۱). با وجود این، آثار منفی احتمالی کتامین و اثرات مثبت احتمالی تمرینات ورزشی و مکمل یاری بربرین بر میزان فریپتوز بافت بیضه همچنان ناشناخته باقی مانده است. در این راستا، در مطالعه حاضر، با تمرکز بر تغییرات احتمالی مقادیر Fe، محتوای GSH، GPX، MDA، و بیان Fpn، Fth، Tfr1، SLC7A11 و اثرات کتامین را بر میزان فریپتوز بافت بیضه مورد بررسی قرار دادیم. سپس، آثار مکمل BB، MICT و MICT همراه با BB بر فریپتوز سلول های بیضه رت های کتامینی را ارزیابی کردیم.

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی است و کلیه موارد اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی در روند انجام پژوهش بر اساس دستورالعمل مصوب کمیته اخلاقی دانشکده دامپزشکی مد نظر قرار گرفت. تعداد ۳۶ رت نر نژاد ویستار، با سن ۸ هفته و وزن بین ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم از مرکز منابع حیوانی دانشگاه ارومیه (ARCUU) تهیه شد. رت ها در قفس های پلی کربنات و در شرایط محیطی کنترل شده با دمای متوسط 25 ± 3 درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۵ تا ۶۰ درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در حیوان خانه نگهداری شدند.

گروه بندی آزمودنی ها: یک هفته پس از سازگاری رت ها با محیط آزمایشگاهی، به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند: (۱) کنترل، (۲) کتامین، (۳) کتامین/ترک، (۴) کتامین/ترک+BB، (۵) کتامین/ترک+MICT و (۶) کتامین/ترک+MICT+BB (هر گروه دارای ۶ رت). در گروه کنترل، رت ها هیچ گونه مداخله ای دریافت نکردند و تا پایان پژوهش تحت شرایط استاندارد نگهداری و تغذیه شدند. رت های گروه کتامین به مدت ۶۰ روز کتامین دریافت کردند و سپس تشریح شدند. در گروه کتامین/ترک، رت ها ابتدا به مدت ۶۰ روز کتامین دریافت کردند و سپس تا پایان پژوهش بدون دریافت مداخله ورزشی و تغذیه ای ترک داده شدند. در گروه کتامین/ترک+MICT، رت ها ابتدا به مدت ۶۰ روز کتامین دریافت کردند و سپس تا پایان پژوهش تمرین MICT انجام دادند. در گروه کتامین/ترک+BB، رت ها ابتدا به مدت ۶۰ روز کتامین دریافت کردند و سپس تا پایان پژوهش با بربرین مکمل یاری شدند. در گروه کتامین/ترک+MICT+BB، رت ها ابتدا به مدت ۶۰ روز کتامین دریافت کردند و سپس تا پایان پژوهش تمرین MICT و مکمل یاری BB دریافت کردند. نکته: مطالعه حاضر دارای دو مرحله بود: مرحله اول (هشت هفته: ۶۰ روز) القاء کتامین و مرحله دوم (هشت هفته: ۶۰ روز) ترک کتامین و اعمال مداخلات مقابله ای (مکمل یاری BB و تمرین MICT) (فلوچارت ۱).

تجویز کتامین، مکمل یاری BB و پروتکل MICT: تجویز کتامین: ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به صورت تزریق درون صفاقی انجام شد (۲۲). به این ترتیب، آزمودنی های گروه های کتامینی در هشت هفته اول (مرحله اول پژوهش) کتامین دریافت کردند.

مکمل یاری BB: آزمودنی های گروه های بربرین از هشت هفته دوم (مرحله دوم پژوهش) تا انتهای پژوهش بربرین دریافت کردند. ابتدا، ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن برای هر رت محاسبه شد و با یک سی سی نرمال سالین ترکیب گردید و به صورت گاوژ خورنده شد.

پروتکل MICT: پروتکل حاضر با اقتباس از پژوهش‌های قبلی (۲۳-۲۶) و پس از تخمین Smax انجام شد. در این پروتکل، رت‌ها پس از ۱۰ دقیقه گرم کردن با سرعت ۷ تا ۱۰ متر بر دقیقه، با شدت ۶۵ تا ۷۰ درصد Smax به مدت ۲۰ تا ۴۵ دقیقه و پنج جلسه در هفته، به مدت هشت هفته تمرین کردند. در پایان هر جلسه، سرد کردن با سرعت ۶ متر بر دقیقه به مدت ۳ دقیقه صورت گرفت (فلوچارت ۱).

آزمون برآورد شدت تمرین (آزمون حداکثر سرعت: Smax): حیوانات در گروه‌های MICT به مدت دو هفته در یک برنامه تمرینی آشناسازی و سازگاری شرکت کردند که شامل سه جلسه در هفته و هر جلسه ۵ تا ۱۵ دقیقه بر روی تردمیل بدون شیب با سرعت ۷ تا ۱۵ متر بر دقیقه بود. پس از این دوره، Smax ارزیابی شد. برای این منظور، رت‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰ تا ۱۵ متر بر دقیقه گرم شدند. سپس، سرعت تردمیل هر ۲ دقیقه به میزان ۲ متر بر دقیقه افزایش می‌یافت تا زمانی که رت‌ها علیرغم تحریک خفیف با چوب دستی قادر یا مایل به ادامه دویدن نباشند. پس از تعیین حداکثر سرعت، شدت تمرین بر اساس حداکثر Smax تعیین شد (۱۸، ۲۳). مطابق با تحقیقات قبلی، آزمون Smax هر دو هفته یکبار از رت‌ها گرفته می‌شد و شدت تمرین (سرعت دویدن بر روی تردمیل) بر اساس آمادگی آن‌ها مجدداً تعیین می‌گردید تا کاهش شدت تمرین به دلیل سازگاری با تمرین جلوگیری شود (۱۸).



فلوچارت ۱. پروتکل مداخله دارویی و تمرین MICT (۵ جلسه در هفته)

نمونه‌برداری و روش‌های آزمایشگاهی: هفتاد و دو ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها با دریافت تزریقی کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند و بافت بیضه جدا شد. بافت‌های بیضه با آب مقطر شسته شدند و پس از آن وزن کشی شدند. سپس، نمونه‌های بافت بیضه چپ در دمای -۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۳). از تکنیک qRT-PCR برای ارزیابی مقادیر بیان ژن SLC7A11، Fth، Fpn و Tfr1 استفاده گردید. بدن منظور، برای استخراج RNA از روش TRIZOL مبتنی بر کلروفرم ارائه شده توسط Sina-Gen تهران استفاده شد و برای سنتز cDNA پروتکل شرکت سازنده (Fermentas GmbH؛ آلمان) در نظر گرفته شد و مستر

میکس (1X SYBR GREEN؛ نوآوران، ایران) استفاده شد. همچنین، برای ارزیابی و کمی‌سازی این متغیر از ژن کنترل داخلی GAPDH استفاده شد و در ادامه برای کمی‌سازی از فرمول $2^{-(-\Delta\Delta CT)}$ استفاده گردید. همچنین، برای ارزیابی تأثیر کتامین، BB و MICT به تنهایی و توأمان بر محتوای آهن بافت بیضه از کیت تجاری اختصاصی (LOT: 99001؛ پارس آزمون، ایران) استفاده شد. برای سنجش MDA از کیت Nalondi شرکت نوین نوند سلامت پیشتاز (ایران) استفاده شد که اساس سنجش در این کیت روش TBARS است. برای سنجش GSH از کیت‌های شرکت نوین نوند سلامت پیشتاز با نام‌های تجاری NarGul و NugluT استفاده شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GPX در سلول‌های بافت هموزن شده بیضه از کیت شرکت نوین نوند سلامت پیشتاز به نام Nag pix استفاده شد.

روش‌های آماری: از آزمون آماری شاپیرو ویلک برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها استفاده شد. جهت مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و نیز از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین اختلافات میان گروه‌ها استفاده شد. تمامی داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند. مقادیر $p < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار آماری Graphpad Prism 6.0 تهیه شدند.

یافته‌ها

تمرین ورزشی، بربرین و مصرف توأمان آن‌ها مقادیر MDA را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد

گروه کتامین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری در مقادیر MDA نشان داد ($p = 0/0001$). به‌علاوه، در گروه کتامین/ترک مقادیر MDA در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($p = 0/0001$). در عین حال، مقادیر MDA بین گروه کتامین و کتامین/ترک اختلاف معنی‌داری داشت ($p = 0/0001$). در مقابل، مقادیر MDA رت‌های گروه کتامین/ترک+BB در مقایسه با رت‌های گروه کتامین و کتامین/ترک کاهش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب، $p = 0/0001$ و $p = 0/0002$). همچنین، مقادیر MDA گروه کتامین/ترک+MICT در مقایسه با گروه کتامین و گروه کتامین/ترک کاهش معنی‌داری نشان داد ($p = 0/0001$). به‌علاوه، گروه کتامین/ترک+BB+MICT در مقایسه با رت‌های گروه کتامین و کتامین/ترک کاهش معنی‌داری در مقادیر MDA نشان داد (به ترتیب $p = 0/0001$ و $p = 0/0020$) (شکل 1A).

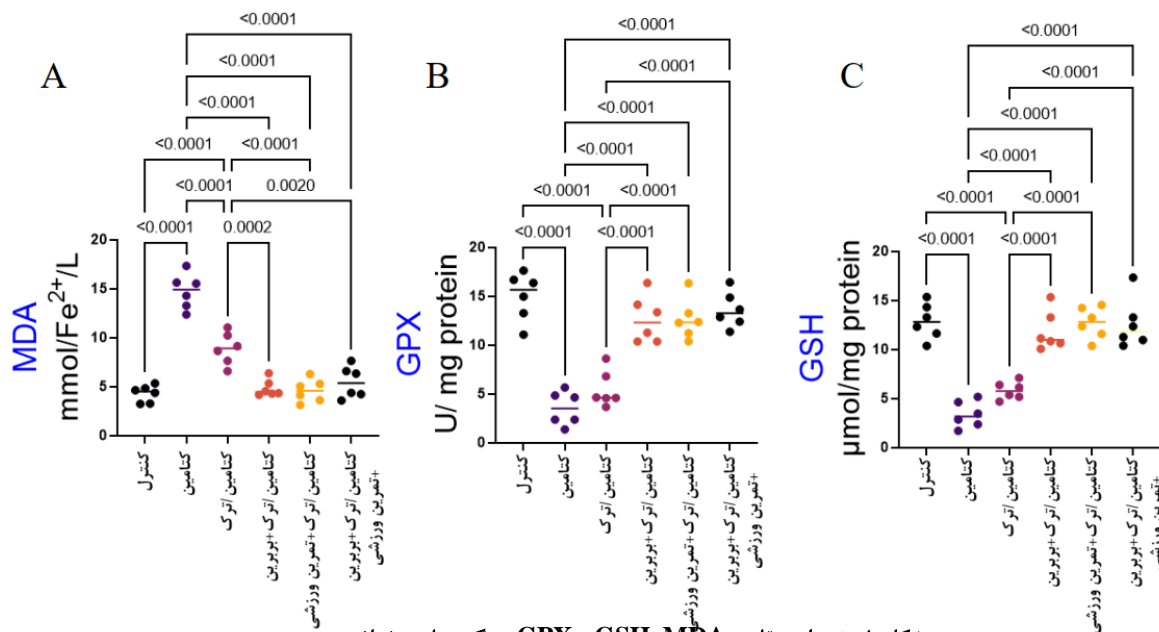
تمرین ورزشی، بربرین و مصرف توأمان آن‌ها مقادیر GSH را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد

گروه کتامین و کتامین/ترک در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری در مقادیر GSH نشان داد ($p = 0/0001$). به‌علاوه، مقادیر GSH در گروه کتامین/ترک+BB در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک افزایش معنی‌داری نشان داد ($p = 0/0001$). همچنین، مقادیر این شاخص در گروه کتامین/ترک+BB+MICT در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک افزایش معنی‌داری نشان داد ($p = 0/0001$) (شکل 1B).

تمرین ورزشی، بربرین و مصرف توأمان آن‌ها مقادیر GPX را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد

گروه کتامین و کتامین/ترک در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری در مقادیر GPX نشان داد ($p = 0/0001$). به‌علاوه، مقادیر GPX در گروه کتامین/ترک+BB در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک افزایش معنی‌داری نشان داد ($p = 0/0001$). علاوه بر این، مقادیر این شاخص در گروه کتامین/ترک+MICT در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک افزایش معنی‌داری نشان داد

($p=0/0001$). همچنین، مقادیر این شاخص در گروه کتامین/ترک+BB+MICT در مقایسه با گروه کتامین و ترک افزایش معنی داری داشت ($p=0/0001$) (شکل ۱C).



شکل ۱. تغییرات مقادیر MDA، GPX و GSH در گروه‌های مختلف پژوهش

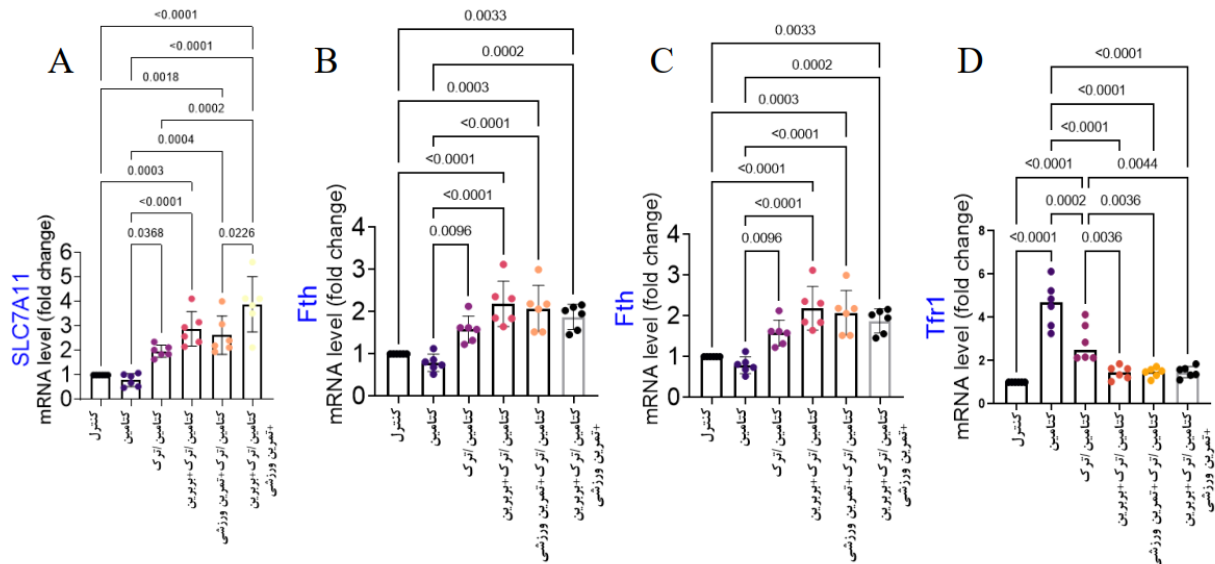
تمامی داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند.

تمرین ورزشی، بربرین و مصرف توآمان آن‌ها mRNA SLC7A11 را به‌طور معنی داری افزایش می‌دهد. مقادیر mRNA SLC7A11 در گروه کتامین/ترک در مقایسه با گروه کتامین افزایش معنی داری نشان داد ($p=0/0368$). به‌علاوه، مقادیر mRNA SLC7A11 در گروه کتامین/ترک+BB در مقایسه با گروه کتامین و کنترل افزایش معنی داری نشان داد (به‌ترتیب، $p=0/0001$ و $p=0/0003$). به همین ترتیب، مقادیر بیان این ژن در گروه کتامین/ترک+MICT در مقایسه با گروه کتامین و کنترل افزایش معنی داری نشان داد (به‌ترتیب، $p=0/0004$ و $p=0/0018$). همچنین، مقادیر بیان این ژن در گروه کتامین/ترک+BB+MICT در مقایسه با گروه کنترل، گروه کتامین و گروه کتامین/ترک افزایش معنی داری داشت (به ترتیب، $p=0/0001$ ، $p=0/0001$ و $p=0/0002$). به‌علاوه، بین گروه کتامین/ترک+MICT با گروه کتامین/ترک+BB+MICT در مقادیر بیان این ژن اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p=0/0226$) (شکل ۲A).

تمرین ورزشی، بربرین و مصرف توآمان آن‌ها mRNA Fth را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. مقادیر mRNA Fth در گروه کتامین/ترک در مقایسه با گروه کتامین افزایش معنی‌داری نشان داد ($p=0/0096$). به‌علاوه، مقادیر mRNA Fth در گروه کتامین/ترک+BB در مقایسه با گروه کتامین و کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ($p=0/0001$). به همین ترتیب، مقادیر بیان این ژن در گروه کتامین/ترک+MICT در مقایسه با گروه کتامین و کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب، $p=0/0001$ و $p=0/0003$). همچنین، مقادیر بیان این ژن در گروه کتامین/ترک+BB+MICT در مقایسه با گروه کنترل و کتامین افزایش معنی‌داری داشت (به ترتیب، $p=0/0033$ و $p=0/0002$) (شکل ۲B).

تمرین ورزشی، بربرین و مصرف توآمان آن‌ها mRNA Fpn را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. مقادیر mRNA Fpn در گروه کتامین/ترک+BB، کتامین/ترک+MICT و گروه کتامین/ترک+BB+MICT در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب، $p=0/0113$ ، $p=0/0480$ و $p=0/0001$). به‌علاوه، مقادیر mRNA Fpn در گروه کتامین/ترک+BB در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک افزایش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب، $p=0/0001$ و $p=0/0073$). به همین ترتیب، مقادیر بیان این ژن در گروه کتامین/ترک+MICT در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک+BB+MICT در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک افزایش معنی‌داری داشت ($p=0/0001$). به‌علاوه، در مقادیر mRNA Fpn بین گروه کتامین/ترک+BB+MICT با گروه کتامین/ترک+BB و کتامین/ترک+MICT تفاوت معنی‌دار وجود داشت (به ترتیب، $p=0/0330$ و $p=0/0075$) (شکل ۲C).

تمرین ورزشی، بربرین و مصرف توآمان آن‌ها mRNA Tfr1 را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. گروه کتامین و کتامین/ترک در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری در مقادیر mRNA Tfr1 نشان داد ($p=0/0001$). در همین حال، مقادیر mRNA Tfr1 بین گروه کتامین/ترک و کتامین تفاوت معنی‌داری داشت ($p=0/0002$). به‌علاوه، مقادیر mRNA Tfr1 در گروه کتامین/ترک+BB در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک کاهش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب، $p=0/0001$ و $p=0/0036$). به همین ترتیب، مقادیر بیان این ژن در گروه کتامین/ترک+MICT در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک کاهش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب، $p=0/0001$ و $p=0/0036$). همچنین، مقادیر بیان این ژن در گروه کتامین/ترک+BB+MICT در مقایسه با گروه کتامین و کتامین/ترک کاهش معنی‌داری داشت (به ترتیب، $p=0/0001$ و $p=0/0044$) (شکل ۲D).

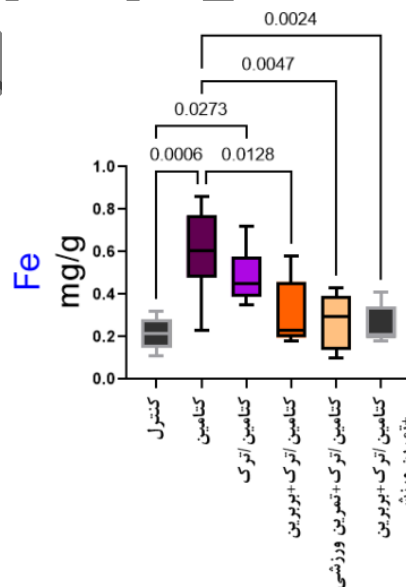


شکل ۲.

تغییرات

مقادیر بیان ژن SLC7A11، Fth، Fpn و Tfr1 بر اساس فولد چنج در گروه‌های مختلف پژوهش تمامی داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند.

تمرین ورزشی، بربرین و مصرف توآمان آن‌ها مقادیر Fe را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد گروه کتامین و کتامین/ترک در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری در مقادیر Fe نشان داد (به ترتیب، $p=0/0006$ و $p=0/0273$). در مقابل، مقادیر Fe در گروه کتامین/ترک+BB، کتامین/ترک+BB+MICT و کتامین/ترک+BB+MICT در مقایسه با گروه کتامین کاهش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب، $p=0/0128$ ، $p=0/0006$ و $p=0/0024$) (شکل ۳).



شکل ۳. تغییرات مقادیر Fe در گروه‌های مختلف پژوهش تمامی داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند.

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر سوء مصرف کتامین و آثار بهبود بخش احتمالی مکمل‌یاری BB و MICT بر فرآیند فروپتوز با تمرکز بر تغییرات احتمالی مقادیر Fe، محتوای GSH، GPX و MDA، و بیان Fth، Fpn، Tfr1 و SLC7A11 بافت بیضه انجام شد. یافته اصلی پژوهش حاضر نشان داد که کتامین به‌طور قابل توجهی منجر به افزایش محتوای بافتی Fe، MDA، تنظیم‌افزایشی بیان Tfr1 و کاهش GPX و GSH می‌شود. به علاوه، همچنان با ترک کتامین، مقادیر Fe، MDA، Tfr1 بالاتر مانده و GPX و GSH نیز در مقادیر کم حفظ می‌شود. در مقابل، ترک کتامین همراه با مکمل‌یاری BB، ترک کتامین همراه با MICT و ترک کتامین در ترکیب با این دو مداخله (BB+MICT) منجر به کاهش بارز Fe، MDA و Tfr1 می‌شود و محتوای GPX، GSH و بیان Fth، Fpn و SLC7A11 بافت بیضه افزایش می‌یابد.

تعادل اکسایشی/ضد‌اکسایشی بافت بیضه برای محافظت از غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA در برابر آسیب‌های اکسایشی و نیز عملکرد صحیح فرآیندهای اسپرمیوژنز و اسپرماتوژنز اهمیت بسیار زیادی دارد. اختلال در این تعادل می‌تواند به پتانسیل باروری و در مجموع به سیستم تولید مثل آسیب برساند (۱۳، ۱۹). با توجه به نقش بسیار مهم GPX و GSH به عنوان عوامل ضد اکسایشی، یافته پژوهش حاضر نشان می‌دهد که سوء مصرف کتامین ممکن است با افزایش تولید ROSها و مهار فعالیت عوامل ضد اکسایشی (↓ GPX و ↓ GSH) بر پتانسیل ضد اکسایشی اثر منفی بگذارد، چرا که مقادیر MDA نیز به عنوان نشانگری از آسیب‌های اکسایشی (پراکسیداسیون لیپیدی) در گروه کتامین در مقایسه با گروه سالم افزایش بارزی یافته بود. برای فهمیدن اهمیت این موضوع باید توجه داشت که افزایش فشار اکسایشی (↑ ROS) و کاهش پتانسیل ضد اکسایشی (↓ GPX و ↓ GSH) علاوه بر ایجاد آسیب‌های اکسایشی و پراکسیداسیون لیپیدی (↑ MDA) بافت بیضه، منجر به حمله به غشای پلاسمایی اسپرم و تکه تکه شدن DNA اسپرم نیز می‌شود (۲۷، ۲۸). با این حال، مقادیر اندک ROS می‌تواند لقاح اسپرم را تقویت کند، اما ROS بیش از حد می‌تواند به همجوشی اسپرم به تخمک، تحرک اسپرم و یکپارچگی DNA آسیب برساند (۲۹) زمانی که NADPH به میزان بیش از حدی افزایش می‌یابد، می‌تواند فعالیت NADPH اکسیداز را در غشای پلاسمایی اسپرم تحریک کند، در نتیجه منجر به تولید ROS بیش از حد می‌شود (۱۳، ۳۰). در پژوهش حاضر نیز احتمالاً بر هم خوردن نسبت $NADP^+/NADPH$ عاملی بر افزایش میزان ROSها است، با این حال در پژوهش حاضر این نسبت ارزیابی نشده بود. بر این اساس، ROS نیز می‌تواند به اسیدهای چرب موجود در غشای پلاسمایی حمله کند و در نتیجه منجر به پراکسیداسیون لیپیدی شود (۳۰). همسو با یافته‌های این بخش از پژوهش حاضر، بائولیس و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که تزریق ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کتامین به مدت ۶ هفته منجر به افزایش بارز میزان MDA می‌شود (۶). در راستای مقابله با آثار نامطلوب سوء مصرف داروها/مواد مخدر احتمالاً بتوان ترک آن‌ها را در خط نخست قرار داد. با این حال، پژوهش حاضر نشان داد که مقادیر MDA گروه ترک کتامین در مقایسه با گروه سالم همچنان در مقادیر بالاتری باقی می‌ماند و مقادیر GSH و GPX نیز همچنان در مقادیر کم حفظ می‌شود. این یافته‌ها بیانگر این است که با وجود ترک کتامین آثار اکسایشی ناشی از آن همچنان در بافت بیضه وجود دارد. بنابراین، ترک کردن کتامین به‌تنهایی نمی‌تواند با بازگشت تعادل اکسایشی بافت بیضه همراه باشد. بنابراین، پیروی از رژیم غذایی سالم، استفاده از مکمل‌های ضد اکسایشی و فعالیت بدنی کافی احتمالاً بتواند به بهبود ظرفیت اکسایشی این بافت کمک کند. در این راستا، یافته پژوهش حاضر نشان داد مقادیر MDA - به‌عنوان نشانه‌ای از پراکسیداسیون لیپیدی - که در گروه کتامین افزایش یافته بود در گروه‌های BB، MICT و به‌ویژه ترکیب این دو مداخله (BB+MICT) نسبت به گروه ترک به‌طور بارزی کاهش یابد. به علاوه، مقادیر GSH و GPX نیز در این گروه‌ها نسبت به گروه ترک افزایش بارزی نشان داد. همچنین، در مقادیر MDA، GSH و GPX در گروه‌های BB، MICT و BB+MICT در مقایسه با گروه سالم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. به‌علاوه، این سه گروه (MICT، BB و BB+MICT) در بهبود وضعیت اکسایشی تفاوت معنی‌داری نداشتند. این نتایج نشان‌دهنده تأثیر مثبت این مداخلات بر افزایش پتانسیل ضد اکسایشی و در نتیجه کاهش آسیب‌های اکسایشی ناشی از کتامین است.

پیش از این معلوم شده بود که کتامین علاوه بر افزایش میزان ROS و پراکسیداسیون لیپیدی باعث افزایش غلظت آهن (Fe) بافتی می‌شود (۵). متابولیسم Fe برای حفظ تحرک اسپرم و متابولیسم انرژی ضروری بوده و عامل مهمی در حمایت از عملکرد اسپرم است (۳۱). با وجود این، به هم خوردن تعادل Fe بیضه محرکی برای القاء فرآیند فروپتوز است (۳۲). بدین صورت که تجمع Fe منجر به واکنشی موسوم به فنتون می‌شود. محصول نهایی این واکنش تولید هیدروپراکسید (OOH) است. تجمع مازاد OOH نیز موجب پراکسیداسیون و آسیب به غشایی سلولی خواهد شد (۳۳). با توجه به اهمیت این مسئله، در پژوهش حاضر تغییرات Fe بافتی را در گروه‌های مختلف پژوهش مورد ارزیابی قرار دادیم و یافته‌ها حاکی از این بود که مقادیر Fe در گروه کتامین افزایش معنی‌داری می‌یابد، که این افزایش همراه با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) و کاهش ظرفیت ضد اکسایشی (GSH↓ و GPX ↓) به نفع القاء فروپتوز است. در این راستا، از جمله سازوکارهایی که در افزایش Fe بافتی نقش دارند، می‌توان به افزایش بیان مقادیر وارد کننده آهن (Tfr1)، کاهش مقادیر خارج کننده آهن (Fpn) و کاهش مبدل کاتالیزوری Fe^{2+} به Fe^{3+} (Fth) اشاره کرد که نقش مهمی در حفظ هومئوستاز Fe دارند. در پژوهش حاضر شاهد تنظیم افزایش معنی‌دار بیان Tfr1 و تنظیم کاهشی غیرمعنی‌دار بیان Fpn و Fth متعاقب استفاده از کتامین بودیم؛ بر این اساس، این وضعیت حاصل از کتامین در بخشی می‌تواند چگونگی تجمع Fe درون سلولی را به نفع فروپتوز تبیین کند. در این بخش از پژوهش حاضر، یافته‌ها نشان داد که ترک کتامین به عنوان یک اقدامی مثبت در مقایسه با گروه کتامین با کاهش محتوای Fe بافت بیضه همراه نیست. با این حال، ترک کتامین در مقایسه با کتامین با کاهش بیان Tfr1 همراه بود، ولی مقادیر آن در مقایسه با گروه سالم همچنان فراتر باقی مانده بود. علاوه بر این، یافته‌ها نشان داد که ترک کتامین در مقایسه با گروه کتامین با تغییر معنی‌دار بیان Fpn همراه نبود و بیان Fth در گروه ترک کتامین نسبت به گروه کتامین افزایش بارزی یافته بود. این یافته‌ها، برای ترک کتامین امیدبخش هستند ولی کافی نیستند. به طوریکه دیگر یافته ما نشان داد که مقادیر Fe در گروه‌های MICT, BB, و MICT+BB به‌طور بارزی در مقایسه با گروه کتامین کاهش می‌یابد. با کاهش محتوای Fe بافتی آثار سمیت حاصل از آن نیز که با افزایش ROSها همراه است، کاهش خواهد یافت (۳۳). چرا که یکی از ماهیت‌های اصلی فروپتوز تجمع پراکسیدهای لیپیدی غشایی به دلیل افزایش قابل توجه محتوای Fe است (۳۲)، بنابراین، احتمالاً یکی از دلایل کاهش میزان MDA بافتی در گروه‌های دارای MICT و BB مربوط به کاهش تجمع Fe بوده است. اخیراً، کردی و همکاران (۲۰۲۴) نیز همسو با ما نشان دادند که تمرین ورزشی می‌تواند بر متابولیسم چربی، اسید آمینه و آهن برای تعدیل فروپتوز تأثیر بگذارد (۳۴). به علاوه، بیان Tfr1 در گروه‌های MICT, BB, و MICT+BB در مقایسه با گروه ترک کاهش معنی‌داری نشان داد. در بیان Tfr1 بین این سه گروه مداخله‌ای با گروه سالم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بنابراین، یکی از سازوکارهای مرتبط با کاهش تجمع Fe و متعاقب آن کاهش پراکسیداسیون لیپیدی را در گروه‌های MICT, BB, و MICT+BB بتوان به تنظیم کاهشی بیان Tfr1 در این گروه‌ها نسبت داد. مقادیر بیان Fpn در گروه‌های MICT, BB, و MICT+BB نسبت به گروه ترک و سالم افزایش بارزی نشان داده بود که این وضعیت نیز بیانگر افزایش پتانسیل خارج کردن Fe از درون سلول است. اما با اینکه بیان Fth در گروه‌های MICT, BB, و MICT+BB در مقایسه با گروه کتامین افزایش بارزی نشان داده بود، با این حال در مقایسه گروه ترک تفاوت معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد که دلیل آن احتمالاً به علت کاهش ورود Fe به درون سلول‌ها در نتیجه ترک کتامین است. این وضعیت، نشان‌دهنده آثار بهبودبخش حاصل از MICT, BB, و MICT+BB بر تعادل ورود و خروج Fe با تعدیل بیان Tfr1, Fpn, و Fth در نهایت کنترل بهتر پدیده فروپتوز است.

دیگر یافته پژوهش حاضر کاهش غیرمعنی‌دار بیان SLC7A11 بافت بیضه گروه کتامین در مقایسه با گروه سالم بود. با وجود این، ترک کتامین در مقایسه با کتامین منجر به افزایش معنی‌دار بیان SLC7A11 شده بود. به‌علاوه، بیان این ژن در گروه MICT+BB در مقایسه با ترک کتامین با افزایش معنی‌داری همراه بود. وانگ و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که فعالیت ورزشی هوازی بیان و محتوای پروتئینی SLC7A11 بافت عضلانی را افزایش می‌دهد که این فرایند از طریق فعال‌سازی مسیر Keap1/Nrf2 ظرفیت ضد اکسایشی را بهبود بخشیده و از بروز فروپتوز جلوگیری می‌کند (۳۵). لیو و همکاران (۲۰۲۲) نیز نشان دادند که مقادیر پروتئین‌های

مرتبط با فروپتوز، از جمله Nrf2، SLC7A11 و GPX در رت‌ها پس از آسیب ایسکمی/پرفیوژن مغزی کاهش می‌یابد، در حالی که تمرین ورزشی از کاهش این پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند (۳۶). در نظر داشته باشید که برای مقابله با فشار اکسایشی، سلول‌ها به سیستم Xc مجهزاند، این سیستم یک آنتی‌پورت اسید آمینه و سیستم ضد اکسایشی مهم درون سلولی بر روی غشای سلولی است که با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی، از سلول‌ها در برابر فروپتوز محافظت می‌کند (۱۰). SLC7A11، زیر واحد اصلی سیستم Xc است (۱۱). SLC7A11، وظیفه انتقال سیستین (Cys) و گلوتامات (Glu) در نسبت ۱:۱ برای حفظ تعادل اسید آمینه درون سلولی را بر عهده دارد و در واقع ناقلی برای تبادل معکوس ال گلوتامیک اسید درون سلولی با ال سیستین خارج سلولی است (۱۱) و جذب سیستین از طریق SLC7A11 برای سنتز GSH ضروری است. با اینکه بیان ژن SLC7A11 در اثر کتامین به‌طور معنی‌داری کاهش نیافته بود، اما احتمالاً تعداد سلول و محتوای پروتئینی SLC7A11 در اثر کتامین دچار آسیب و پراکسیداسیون شده بود. هرچند که در پژوهش حاضر محتوای پروتئینی و تعداد سلول SLC7A11 مورد ارزیابی قرار نگرفته بود. اما به وضوح مشخص است که محتوای GSH و GPX در اثر کتامین کاهش معنی‌داری می‌یابد. برای فهمیدن این موضوع باید توجه کرد که با مهار SLC7A11 تبادل Cys/Glu دچار نقص می‌شود. یعنی، گلوتامات در خارج سلول تجمع پیدا می‌کند و در این وضعیت فعالیت GSH نیز مهار می‌شود (۱۲). بنابراین، در اینجا نیز می‌توان یکی از دلایل افزایش مقادیر MDA و کاهش GSH و GPX گروه کتامین را با تخریب پروتئینی SLC7A11 مرتبط دانست.

مطالعه حاضر دارای چندین محدودیت است. به‌ویژه اندازه کوچک نمونه که می‌تواند به نتایج سوگیری منجر شود. علاوه بر این، اندازه‌گیری محتوای پروتئینی و تعداد سلول‌های مربوط به شاخص‌های بالقوه مهم در فروپتوز (SLC7A11، Fth، Fpn و Tfr1) با استفاده از تکنیک وسترن بلات و ایمونوهیستوشیمی می‌توانست درک عمیق‌تری از این موضوع ارائه دهد.

در نهایت، با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر - برای نخستین بار - نشان داده شد که سوء مصرف کتامین منجر به افزایش استرس اکسایشی و فروپتوز بافت بیضه می‌شود. در مقابل، ترک کتامین و پیروی از MICT و BB به‌طور مستقل و توأمان می‌تواند اثرات بهبودبخش بارزی بر استرس اکسایشی و شاخص‌های فروپتوز بافت بیضه رت‌های نر ویستار پس از مواجهه مزمن با کتامین داشته باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از رساله دکتری تخصصی رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه ارومیه است. بدین وسیله، از گروه فیزیولوژی ورزشی و حرکات اصلاحی دانشکده علوم ورزشی دانشگاه ارومیه، گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه و مجموعه تحقیقاتی رستا به خاطر تمامی کمک‌هایشان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

حمایت مالی

پژوهش حاضر هیچ‌گونه حمایت مالی از هیچ سازمان خاصی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

در این پژوهش، نویسنده اول به عنوان دانشجوی دکتری، نویسنده دوم به عنوان استاد راهنمای اول و نویسنده سوم به عنوان استاد راهنمای دوم مشارکت و همکاری داشته‌اند.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله هیچ گونه نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

منابع

1. Hinojosa ASV. Multimodal anesthesia: integrated strategies to improve pain management and recovery: a literature review. *Portal SOAR: Sapienza Open Access Repository*. 2024;7(EBOA7):90-7.
2. Palamar JJ, Rutherford C, Keyes KM. Trends in ketamine use, exposures, and seizures in the United States up to 2019. *American journal of public health*. 2021;111(11):2046-9.
3. He Y, Zou Q, Li B, Chen H, Du X, Weng S, et al. Ketamine inhibits human sperm function by Ca²⁺-related mechanism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2016;478(1):501-6.
4. Pappachan JM, Raj B, Thomas S, Hanna FW, editors. *Multiorgan dysfunction related to chronic ketamine abuse*. Baylor University Medical Center Proceedings; 2014: Taylor & Francis.
5. Stockwell BR, Angeli JPF, Bayir H, Bush AI, Conrad M, Dixon SJ, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease. *Cell*. 2017;171(2):273-85.
6. Paulis M, Hafez E, El-Tahawy N. Toxicity and postwithdrawal effects of ketamine on the reproductive function of male albino rats: Hormonal, histological, and immunohistochemical study. *Human & Experimental Toxicology*. 2020;39(8):1054-65.
7. Friedmann Angeli JP, Krysko DV, Conrad M. Ferroptosis at the crossroads of cancer-acquired drug resistance and immune evasion. *Nature Reviews Cancer*. 2019;19(7):405-14.
8. Ward DM, Kaplan J. Ferroportin-mediated iron transport: expression and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2012;1823(9):1426-33.
9. Green DR. The coming decade of cell death research: five riddles. *Cell*. 2019;177(5):1094-107.
10. Wang L, Liu Y, Du T, Yang H, Lei L, Guo M, et al. ATF3 promotes erastin-induced ferroptosis by suppressing system Xc⁻. *Cell Death & Differentiation*. 2020;27(2):662-75.
11. Koppula P, Zhang Y, Zhuang L, Gan B. Amino acid transporter SLC7A11/xCT at the crossroads of regulating redox homeostasis and nutrient dependency of cancer. *Cancer Communications*. 2018;38:1-13.
12. Koppula P, Zhuang L, Gan B. Cystine transporter SLC7A11/xCT in cancer: ferroptosis, nutrient dependency, and cancer therapy. *Protein Cell*. 2021;12(8):599-620.
13. Habibi Maleki A, Tolouei Azar J, Razi M, Tofighi A. The Effect of Different Exercise Modalities on Sertoli-germ Cells Metabolic Interactions in High-fat Diet-induced Obesity Rat Models: Implication on Glucose and Lactate Transport, Igf1, and Igf1R-dependent Pathways. *Reprod Sci*. 2024;31(8):2246-60.
14. Adedotun OA, Chukwunyenye CC, Balogun AF, Olawale MA, Babatunde JO, Ogunlade B. Histomorphological response of D-ribose L-cysteine to ketamine-induced testicular toxicity in adult male Wistar rats. *Redox Experimental Medicine*. 2023;2023(1).

15. Khalafi M, Habibi Maleki A, Sakhaei MH, Rosenkranz SK, Pourvaghar MJ, Ehsanifar M, et al. The effects of exercise training on body composition in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Endocrinology*. 2023;14.
16. Khalafi M, Symonds ME, Maleki AH, Sakhaei MH, Ehsanifar M, Rosenkranz SK. Combined versus independent effects of exercise training and intermittent fasting on body composition and cardiometabolic health in adults: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Journal*. 2024;23(1):7.
17. Yang KT, Chao TH, Wang IC, Luo YP, Ting PC, Lin JH, et al. Berberine protects cardiac cells against ferroptosis. *Tzu chi medical journal*. 2022;34(3):310-7.
18. Tolouei Azar J, Habibi Maleki A, Moshari S, Razi M. The effect of different types of exercise training on diet-induced obesity in rats, cross-talk between cell cycle proteins and apoptosis in testis. *Gene*. 2020;754:144850.
19. Yi X, Tang D, Cao S, Li T, Gao H, Ma T, et al. Effect of Different Exercise Loads on Testicular Oxidative Stress and Reproductive Function in Obese Male Mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:3071658.
20. Józkw P, Rossato M. The Impact of Intense Exercise on Semen Quality. *Am J Mens Health*. 2017;11(3):654-62.
21. Chen J, Zhu T, Yu D, Yan B, Zhang Y, Jin J, et al. Moderate Intensity of Treadmill Exercise Rescues TBI-Induced Ferroptosis, Neurodegeneration, and Cognitive Impairments via Suppressing STING Pathway. *Mol Neurobiol*. 2023.
22. Zhang Y-l, Zhang P-b, Qiu S-d, Liu Y, Tian Y-f, Wang Y. Effects of ketamine-midazolam anesthesia on the expression of NMDA and AMPA receptor subunit in the peri-infarction of rat brain. *Chinese medical journal*. 2006;119(18):1555-62.
23. Habibi Maleki A, Tolouei Azar J, Razi M, Tofighi A. The Effect of Different Exercise Modalities on Sertoli-germ Cells Metabolic Interactions in High-fat Diet-induced Obesity Rat Models: Implication on Glucose and Lactate Transport, Igf1, and Igf1R-dependent Pathways. *Reproductive Sciences*. 2024:1-15.
24. Habibi Maleki A, Tofighi A, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. The effect of 12 weeks of high intensity interval training and high intensity continuous training on VEGF, PEDF and PAI-1 levels of visceral and subcutaneous adipose tissues in rats fed with high fat diet. *Sport Physiology & Management Investigations*. 2020;12(1):101-20.
25. Habibi Maleki A, Tofighi A, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J, Ehsani Far M. The effect of three different exercise training on blood lipid profile, fetuin-A, and fibroblast growth factor 21 (FGF-21) in visceral adipose tissue of obese rats. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2020;19(1):109-22.
26. Habibi Maleki A, Tofighi A, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. The effect of 12 weeks of moderate intensity continuous training (MICT) on inflammatory and angiogenesis factors of visceral and subcutaneous adipose tissue in obese rats: a semi-experimental study. 2019.
27. Kuroda S, Yumura Y, Mori K, Yasuda K, Takeshima T, Kawahara T, et al. Negative correlation between presence of reactive oxygen species and Sperm Motility Index in whole semen samples of infertile males. *Revista Internacional de Andrología*. 2017;15(3):84-9.
28. Atig F, Kerkeni A, Saad A, Ajina M. Effects of reduced seminal enzymatic antioxidants on sperm DNA fragmentation and semen quality of Tunisian infertile men. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2017;34:373-81.
29. Koppula P, Zhang Y, Zhuang L, Gan B. Amino acid transporter SLC7A11/xCT at the crossroads of regulating redox homeostasis and nutrient dependency of cancer. *Cancer Commun (Lond)*. 2018;38(1):12.

30. Noguchi T, Suzuki M, Mutoh N, Hirata Y, Tsuchida M, Miyagawa S, et al. Nuclear-accumulated SQSTM1/p62-based ALIS act as microdomains sensing cellular stresses and triggering oxidative stress-induced parthanatos. *Cell Death & Disease*. 2018;9(12):1193.
31. Tvrda E, Peer R, Sikka SC, Agarwal A. Iron and copper in male reproduction: a double-edged sword. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2015;32:3-16.
32. Yuan W, Sun Z, Ji G, Hu H. Emerging roles of ferroptosis in male reproductive diseases. *Cell Death Discovery*. 2023;9(1):358.
33. Eid R, Arab NT, Greenwood MT. Iron mediated toxicity and programmed cell death: A review and a re-examination of existing paradigms. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2017;1864(2):399-430.
34. Kordi N, Saydi A, Karami S, Bagherzadeh-Rahmani B, Marzetti E, Jung F, et al. Ferroptosis and aerobic training in ageing. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2024;87(3):347-66.
35. Wang Z-Z, Xu H-C, Zhou H-X, Zhang C-K, Li B-M, He J-H, et al. Long-term detraining reverses the improvement of lifelong exercise on skeletal muscle ferroptosis and inflammation in aging rats: fiber-type dependence of the Keap1/Nrf2 pathway. *Biogerontology*. 2023;24(5):753-69.
36. Liu T, Cui Y, Dong S, Kong X, Xu X, Wang Y, et al. Treadmill Training Reduces Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting Ferroptosis through Activation of SLC7A11/GPX4. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022;2022(1):8693664.