

اثرات پیش‌درمان تمرین استقامتی بر استرس ناشی از دوکسوروبیسین در موش‌های صحرایی

نویسندگان:

شبنم جمالی^۱، ولی ا... دیدیدی روشن^{۲*}، سمانه افشان^۲

۱- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد واحد ساری، ساری، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.1, Spring 2016

چکیده:

مقدمه: هدف از پژوهش حاضر، تأثیر پیشگیرانه تمرین استقامتی بر تغییرات مقادیر پروتئین شوک گرمایی و کاتالاز بافت کبد موش‌های صحرایی در پی تزریق حاد دوکسوروبیسین بود.

روش کار: جامعه آماری این پژوهش شامل ۷۲ سر موش صحرایی نر بود که به‌طور تصادفی به گروه‌های کنترل و تمرین تقسیم شدند. گروه تمرین نیز خود به دو گروه تمرینی سه و شش هفته‌ای تقسیم شدند. در پایان دوره تمرین، گروه‌های تمرینی نیز به‌طور تصادفی به زیرگروه‌هایی تقسیم شدند که پس از گذشت ۲۴ ساعت از آخرین جلسه تمرین، دوکسوروبیسین با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و سالیین ۰/۹ درصد به آن‌ها تزریق شد. میزان پروتئین شوک گرمایی و کاتالاز بافت کبد به روش الیزا از طریق بافت کبد اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: افزایش معنادار مقادیر پروتئین شوک گرمایی در گروه کنترل/دوکسوروبیسین ۲۰ نسبت به گروه کنترل سالیین دیده شد ($P=0/01$). تزریق دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پس از تمرین‌های ۳ و شش هفته‌ای باعث افزایش معنادار کاتالاز نسبت به گروه‌های سه و شش هفته‌ای تمرین/سالیین شد (مقدار - p به ترتیب برابر است با ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: بهره‌گیری از شیوه‌های غیر دارویی مانند تمرینات استقامتی میان‌مدت و کوتاه‌مدت قبل از تزریق داروی دوکسوروبیسین می‌تواند از طریق افزایش سازوکارهای حمایتی و کاهش استرس اکسایشی از میزان سمی بودن کبدی ناشی از دارو بکاهد و به‌عنوان یک رویکرد پیشگیرانه می‌تواند قبل از درمان دوکسوروبیسین مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: پروتئین شوک گرمایی، کاتالاز، دوکسوروبیسین، استرس اکسایشی

Par J Med Sci 2016;14(1):45-54

مقدمه:

نظر می‌رسد برداشتن کبد و یا پیوند کبد در حال حاضر مؤثرترین روش درمانی برای این نوع سرطان باشد [۲]. ناتوانایی روش‌های درمانی اخیر در ریشه‌کنی تومورهای سرطانی سبب شده است تا راهبردهای جدید درمانی متعددی برای جایگزینی با پیوند کبد بررسی شود.

یکی از داروهایی که اغلب در شیمی‌درمانی برای درمان انواع تومورهای سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرد، آنتراسایکلین بسیار مؤثری به نام دوکسوروبیسین است [۳، ۴]. متأسفانه استفاده بالینی از این داروی ضد سرطان به علت عوارض جانبی منفی برگشت‌ناپذیر است و شامل گسترش کاردیومیوپاتی و در نهایت منجر به نارسایی احتقانی قلب می‌شود [۵، ۶، ۷]. کبد به

سرطان بعد از بیماری‌های قلبی-عروقی در زمره شایع‌ترین بیماری‌های است که انسان را در سراسر دنیا تحت تأثیر قرار داده است و بر اساس آمارهای منتشرشده تقریباً ۱۳ درصد از مرگ‌ها را در برمی‌گیرد. تازه‌ترین دستاوردهای علمی پژوهشگران حاکی از آن است که تقریباً تمام داروهای ضد توموری دارای اثرات جانبی سمی هستند که عملکرد چندین اندام را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۱]. کبد یک عضو مهم، حیاتی و سم‌زدای بدن است به همین دلیل اغلب با مقادیر بسیار زیاد عوامل سرطان‌زای محیطی مواجه است که در نهایت منجر به سرطان کبد می‌شود. سرطان کبد در برابر بسیاری از پروتکل‌های شیمی‌درمانی و پروتو درمانی بسیار پایدار است و به

* نویسنده مسئول، نشانی: مازندران - بابلسر - پردیس دانشگاه - دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی

پست الکترونیک: vdabidiroshan@yahoo.com

تلفن تماس: ۰۹۱۱۳۱۵۱۵۰۹ - ۰۱۱۲۵۳۴۲۰۱

پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۳۱

اصلاح: ۱۳۹۵/۲/۲۱

دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۷

نشان می‌دهند تمرین با شدت متوسط و منظم می‌تواند به‌عنوان ابزاری مؤثر برای پیشگیری و یا درمان چندین بیماری مورد استفاده قرار گیرد [۶،۷]. با تمام این موارد، پژوهش حاضر سعی دارد تأثیر حفاظتی تمرینات منظم استقامتی به‌عنوان یک راهبرد پیش‌درمانی قبل از القای دوزهای مختلف دوکسوروبیسین بر شاخص‌های مرتبط با مسمومیت کبدی که دیدگاه تازه‌ای است و تاکنون به‌طور جدی مورد توجه پژوهشگران قرار نگرفته است را مورد بررسی قرار دهد.

روش کار:

جامعه آماری تحقیق حاضر شامل ۷۲ سر موش صحرایی ویستار نر ۶۰ روزه بود که به‌طور تصادفی به گروه‌های تمرین و کنترل دسته‌بندی شدند. برای دسته‌بندی در قالب گروه‌های دوگانه تحقیق (گروه تمرین و کنترل)، به‌صورت تصادفی از هر قفس با مقادیر وزنی نزدیک به هم (اختلاف وزنی ۱۰ گرم)، یک موش انتخاب و در گروه‌های تمرین و کنترل وارد شدند. گروه‌های تمرین به‌نوبه خود به زیرگروه‌های تمرین ۳ و شش هفته‌ای تقسیم شدند.

پروتکل تمرینی پژوهش حاضر - شامل سه و شش هفته تمرین استقامتی (۵ جلسه در هفته با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر در دقیقه و مدت ۲۵ تا ۵۴ دقیقه) توسط موش‌ها اجرا شد. قبل از اجرای پروتکل تمرینی، آزمودنی‌ها به مدت یک هفته با نحوه انجام فعالیت روی نوار گردان آشنا شدند. برنامه آشنایی شامل پنج جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۵ تا ۸ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه برای مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه بود. برنامه تمرینی برای گروه تمرینی و ترکیبی شامل دویدن روی نوار گردان بدون شیب ویژه جوندگان بود که مدت تمرین در سه هفته اول (مرحله ۱) بین ۳۹-۲۵ دقیقه با سرعت بین ۱۷-۱۵ متر بر دقیقه اجرا شد. سپس این تمرین به‌صورت پیش‌رونده با رعایت اصل اضافه‌بار افزایش یافت به‌نحوی که مدت تمرین در سه هفته دوم (مرحله ۲) بین ۵۴-۴۰ دقیقه با سرعت بین ۲۰-۱۸ متر بر دقیقه دنبال شد. بدین‌صورت که در شروع سه هفته دوم تمرین، گروه شش هفته‌ای به مرحله ۲ تمرین خود ادامه داده و هم‌زمان با آن گروه تمرین سه هفته‌ای همانند مرحله ۱ به تمرین پرداختند. این برنامه پنج جلسه در هفته اجرا شد. برای گرم کردن بدن، آزمودنی‌ها در ابتدای هر جلسه تمرینی به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۷ متر بر دقیقه دویده و سپس برای رسیدن به‌سرعت موردنظر به ازای هر دقیقه، ۲ متر بر دقیقه به‌سرعت نوار گردان افزوده شد. برای سرد کردن بدن در انتهای هر جلسه تمرینی، سرعت نوار گردان به‌طور معکوس کاهش یافت تا

علت انباشته و متابولیزه شدن این دارو با غلظت بالا در آن، به عنوان یکی از اندام‌های آسیب‌پذیر در هنگام درمان با دوکسوروبیسین مطرح است. آسیب کبدی و مسمومیت قلبی از معمول‌ترین عوارض جانبی دوکسوروبیسین است [۷، ۸، ۹]. با وجودی که کبد قادر به بازسازی طبیعی بافت‌های ازدست‌رفته خود با چرخه دوباره‌سازی سلول‌های کبدی است، ولی با این‌حال، مشخص شده است که دوکسوروبیسین می‌تواند باعث توقف چرخه سلولی در فرایند بازسازی خود سلول‌های کبدی شود. با وجود این اثر، به نظر می‌رسد که مهم‌ترین علت مسمومیت دوکسوروبیسین در کبد مرتبط با استرس اکسیداتیو باشد [۱۰]. بررسی‌ها نشان می‌دهد که تولید گونه‌های اکسیژنی فعال ناشی از دوکسوروبیسین منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز، صدمه به DNA، کاهش گلوتاتیون و ویتامین E می‌شود. بدین ترتیب این موضوع تأیید می‌شود که سمی شدن کبدی ناشی از دوکسوروبیسین با ایجاد استرس اکسایشی مرتبط است [۱۱، ۱۲، ۱۳]. از آنجایی که بسیاری از داروها اثرات جانبی خاص خود را دارند که به‌ویژه منجر به آسیب‌های اکسایشی و غیراکسایشی به اندام‌های دیگر بدن که درگیر بیماری نیستند نیز می‌شوند [۹]، از این‌رو اتخاذ هرگونه راه‌کاری برای مقابله با اثرات جانبی این گونه داروهای ضد سرطانی می‌تواند تأثیر به‌سزایی در بهبود بهداشت و سلامت افراد و همین‌طور گسترش کیفیت زندگی در افراد مبتلا و خانواده آنان داشته باشد. با مشخص شدن سازوکار رادیکال‌های آزاد در مسمومیت ناشی از دوکسوروبیسین، راهبردهای مختلفی به‌منظور پیشگیری یا تغییر آسیب ناشی از آن توسط پژوهشگران مختلف بررسی شده است. محققان زیادی فعالیت منظم بدنی را راهبردی برای بهبود دفاع سیستم آنتی‌اکسیدانی معرفی کرده‌اند [۱۴، ۱۳، ۱۲]. افزایش بیش از حد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در بدن از قبیل پروتئین شوک گرمایی، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز روش جالبی برای مقابله با اثرات مسمومیت ناشی از دوکسوروبیسین است [۱۴]. پژوهشگران معتقدند تمرینات ورزشی با تنظیم مثبت دستگاه‌های آنتی‌اکسیدانتی و همین‌طور تحریک پروتئین‌های حفاظت سلولی از قبیل HSP مرتبط می‌باشند [۷، ۱۳]. همچنین مشخص شده است که ایزوفرم تحریک‌پذیر پروتئین شوک گرمایی 70KDa (HSP72) نیز متعاقب انجام تمرین در سلول‌های عضله قلبی رخ می‌دهد و این افزایش میزان شوک گرمایی قلبی با حفظ عملکرد قلبی در طی دوره‌های قرارگیری در معرض استرس اکسایشی همراه است [۳]. به‌علاوه، این امر می‌تواند باعث افزایش مقاومت بافت در برابر آسیب ناشی از گونه‌های اکسیژنی فعال شود [۱۵]. از سوی دیگر، مطالعات

سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. برای انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه از یخ خشک استفاده شد. تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی شوک گرمایی و کاتالاز به روش الیزا انجام گرفت.

پس از جمع‌آوری داده‌های خام، از آمار توصیفی برای دسته‌بندی و تعیین شاخص‌های مرکزی و پراکندگی داده‌ها و از آزمون کولموگروف - اسمیرنف برای بررسی پیروی توزیع داده‌ها از توزیع نرمال استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها، برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی به منظور بررسی تفاوت هر یک از شاخص‌های موردنظر بین گروه‌های مختلف پژوهش استفاده شد. تمام تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. مقدار معناداری آماری برابر یا کمتر ۰/۰۵ تعیین شد.

یافته‌ها:

جدول ۱ یافته‌های مربوط به مقادیر پروتئین شوک گرمایی و کاتالاز بافت کبد در گروه‌های مختلف پژوهش را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در جدول ۱ مشخص است میانگین مقادیر پروتئین شوک گرمایی در گروه کنترل - دوکسوروبیسین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نسبت به گروه کنترل - سالیین افزایش یافته است که میزان افزایش در گروه کنترل که تزریق ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از دوکسوروبیسین داشتند (C/DXR20) نسبت به گروه کنترل با تزریق سالیین (C/SAL) معنادار بود (مقدار - P برابر است با ۰/۰۰۱). همچنین به ترتیب افزایش ۱۴٪ و ۲۸٪ مقدار پروتئین شوک گرمایی در گروه تمرین ۳ و ۱۴ شش هفته‌ای - سالیین (EX/SAL) نسبت به گروه کنترل - سالیین (C/SAL) مشاهده شد که همان‌طور که در نمودار ۱ دیده می‌شود این افزایش از لحاظ آماری معنادار نبود (مقدار - p به ترتیب برابر است با ۰/۸۳ و ۰/۸۴).

از سوی دیگر اجرای ۳ و شش هفته تمرین هوازی و تزریق دوکسوروبیسین با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش مقادیر پروتئین شوک گرمایی نسبت به گروه‌های کنترل - دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (C/DXR10) و کنترل - دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (C/DXR20) شد.

علی‌رغم موارد مذکور، در گروهی که تمرین شش هفته‌ای داشته و دوکسوروبیسین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروه تمرین سه هفته‌ای و دریافت‌کننده دوز مشابه دارو، افزایش ۱۰٪ در میزان پروتئین شوک گرمایی مشاهده شد، اما این افزایش از نظر آماری معنادار

به سرعت اولیه برسد. تمام برنامه‌های تمرینی روی نوار گردان بدون شیب انجام شد.

پس از اعمال دوره تمرینی روی آزمودنی‌ها، هر گروه خود به زیرگروه‌هایی شامل زیرگروه با داروی دوکسوروبیسین در غلظت‌های ۱۰ mg/kg و ۲۰ mg/kg و سالیین دسته‌بندی شدند. در هر گروه هشت‌سر موش صحرایی قرار داشت و در مجموع موش‌ها به نه گروه شامل گروه‌های کنترل - سالیین (C/SAL)، کنترل - دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (C/DXR10)، کنترل - دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (C/DXR20)، تمرین سه هفته‌ای - سالیین (3wEX/SAL)، تمرین سه هفته‌ای - دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (3wEX/DXR10)، تمرین سه هفته‌ای - دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (3wEX/DXR20)، تمرین شش هفته‌ای - سالیین (6wEX/SAL)، تمرین شش هفته‌ای - دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (6wEX/DXR10)، تمرین شش هفته‌ای - دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (6wEX/DXR20) تقسیم شدند. دوکسوروبیسین با دوزهای تعیین شده برای هر گروه شامل دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش توسط سرنگ‌های انسولینی و به مقدار یک واحد به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن آزمودنی به صورت زیرصفاقی تزریق شد. همچنین جهت یکسان‌سازی شرایط همه آزمودنی‌ها و در نظر گرفتن اثرات استرسی احتمالی ناشی از تزریق در گروه‌های دریافت‌کننده دارو، به گروه‌های دیگر نیز یک واحد انسولینی سالیین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن به صورت زیر صفاقی تزریق شد. همه تزریق‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین انجام می‌شد.

در این تحقیق، برای جلوگیری از اثر سن روی شاخص‌های مورد مطالعه، تمام حیوانات در انتهای پژوهش با شرایط کاملاً مشابه برای نمونه‌برداری آماده‌سازی شدند. تمام گروه‌ها در شرایط استراحتی (۲۴ ساعت پس از تزریق دوکسوروبیسین یا سالیین که ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین انجام شده بود) با کتامین و زایلازین با نسبت ۵ به ۲ بی‌هوش و کبد آن‌ها پس از جداسازی و شستشو بلافاصله در مایع نیتروژن قرار داده و سپس برای مطالعات بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای سنجش شوک گرمایی و کاتالاز بافت کبد، ابتدا بافت موردنظر با استفاده از مایع نیتروژن پودر شده و با ۰/۱ گرم از پودر ساخته شده با یک میلی‌لیتر بافر حاوی ۱۳۷ میلی‌مول NaCl، ۲۰ میلی‌مول (pH/۰) tris-HCl، ۱٪ NP، ۱۰٪ گلیسرول، ۱ میلی‌مول PMSF، ۱ میکروگرم لپتین، ۰/۵ میلی‌مول سدیم وانادایت و ۱۰۰ میلی‌گرم AEBSF هموژنیزه و سپس محلول به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با

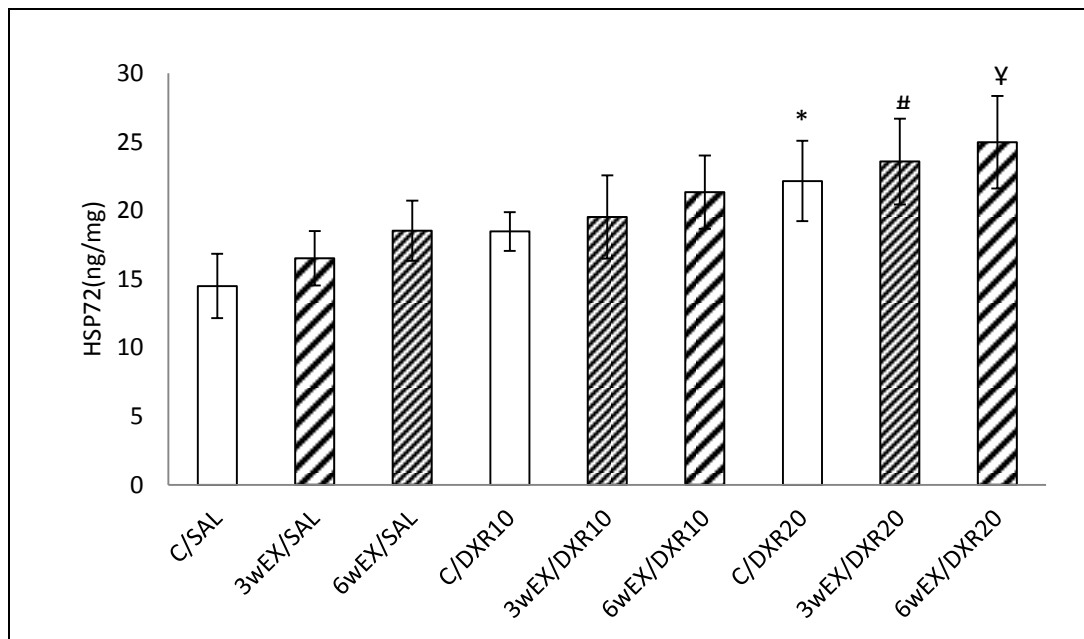
نشد (مقدار - p برابر است با ۰/۱۳۷). نسبت به یکدیگر تفاوت معناداری

نداشت (مقدار - p برابر است با ۰/۱۳۷). بنابراین افزایش معنادار مقادیر این شاخص در گروه C/DXR20L نسبت به گروه C/SAL دیده شد. از سوی دیگر القای پیش‌درمان تمرین هوازی منجر به افزایش معنادار مقادیر این شاخص در گروه 3wEX/ DXR20 نسبت به گروه 3wEX/SAL و همچنین در گروه 6wEX/ DXR20 نسبت به گروه 6wEX/SAL شد که در نمودار ۱ ملاحظه می‌شود.

نمود (مقدار - p برابر است با ۰/۹۰۴). همچنین در پی تزریق ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دوکسوروبیسین، گروه تمرین شش هفته‌ای (6wEX/DXR20) در مقایسه با گروه تمرین سه هفته‌ای (3wEX/DXR20) نسبت به گروه کنترل که تزریق ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داشتند (C/DXR20)، میزان پروتئین شوک گرمایی افزایش بیشتری داشت (مقدار - p برابر است با ۰/۹۰۴). علاوه بر این افزایش میزان پروتئین شوک گرمایی در گروه‌هایی که تزریق ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دوکسوروبیسین داشتند

جدول ۱: تغییرات مقادیر میانگین پروتئین شوک گرمایی برحسب نانوگرم در میلی‌لیتر و کاتالاز برحسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

گروه‌ها	شاخص	شوک گرمایی	کاتالاز
کنترل - سالین		۱۴,۴۹±۲,۳۴	۱۱۹,۲۵±۴,۸۵
کنترل - دوکسوروبیسین ۱۰ (mg.kg ⁻¹)		۱۸,۴۷±۱,۴۱	۱۱۷,۱۰±۵,۶۰
کنترل - دوکسوروبیسین ۲۰ (mg.kg ⁻¹)		۲۲,۱۵±۲,۹۳	۱۰۹,۱۵±۴,۵۵
تمرین سه هفته ای - سالین		۱۶,۵۱±۱,۹۸	۱۲۶,۷۷±۵,۲۷
تمرین سه هفته ای - دوکسوروبیسین ۱۰ (mg.kg ⁻¹)		۱۹,۵۲±۳,۰۳	۱۲۳,۲۵±۵,۰۱
تمرین سه هفته ای - دوکسوروبیسین ۲۰ (mg.kg ⁻¹)		۲۳,۵۷±۳,۱۳	۱۱۶,۶۰±۵,۱۵
تمرین شش هفته ای - سالین		۱۸,۵۲±۲,۱۹	۱۳۱,۱۵±۵,۷۵
تمرین شش هفته ای - دوکسوروبیسین ۱۰ (mg.kg ⁻¹)		۲۱,۳۳±۲,۶۸	۱۲۵,۴۰±۳,۹۵
تمرین شش هفته ای - دوکسوروبیسین ۲۰ (mg.kg ⁻¹)		۲۴,۹۷±۳,۳۷	۱۲۰,۰۰±۳,۹۶



نمودار ۱: تغییرات مقادیر پروتئین شوک گرمایی در گروه‌های مختلف تحقیق متعاقب اجرای سه و شش هفته تمرین استقامتی

* نشان‌دهنده میزان معناداری نسبت به گروه C/SAL

نشان‌دهنده میزان معناداری نسبت به گروه 3w EX/SAL

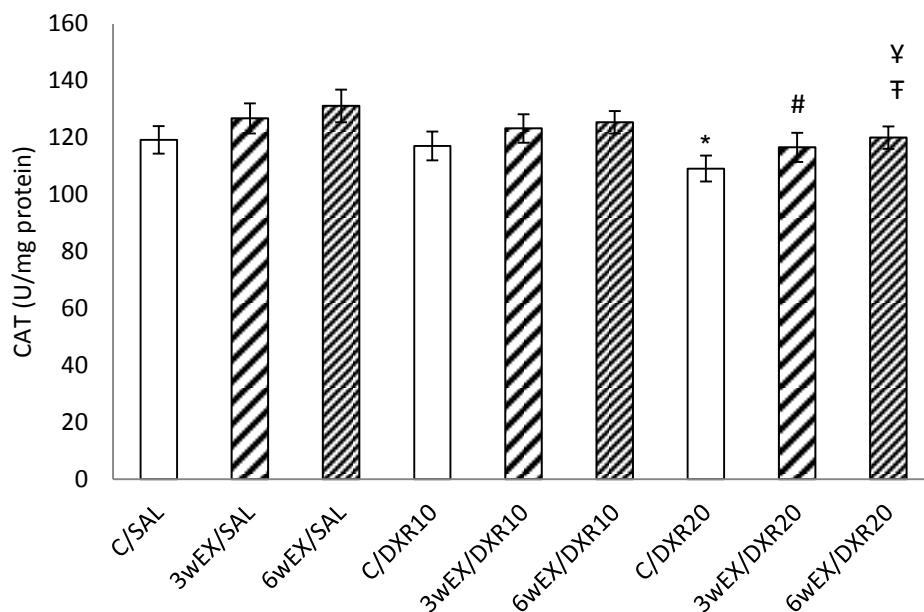
Y میزان معناداری نسبت به گروه 6w EX/SAL است.

با $0/001$ و نیز افزایش 7% در مقدار کاتالاز در گروه تمرین شش هفته‌ای - دوکسوروبیسین 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل - تزریق دوکسوروبیسین 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد (مقدار - P برابر است با $0/002$). همان‌طور که در نمودار ۲ ملاحظه می‌شود میزان کاتالاز در $3wEX/DXR10$ و $6wEX/DXR10$ در مقایسه با گروه $C/DXR10$ افزایش داشت و این افزایش در گروه $6wEX/DXR10$ از لحاظ آماری معنادار بود (مقدار - P برابر است با $0/002$). در گروه $3wEX/DXR20$ نیز افزایش میزان کاتالاز در مقایسه با $C/DXR20$ دیده شد (مقدار - P برابر است با $0/007$) که مقادیر این شاخص در گروه $6wEX/DXR20$ در مقایسه با $C/DXR20$ به‌طور معناداری افزایش یافت (مقدار - P برابر است با $0/001$).

از سوی دیگر، در پی شش هفته تمرین و تزریق دوزهای 10 و 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم از دوکسوروبیسین، میزان کاتالاز در مقایسه با سه هفته دوره تمرین و دوزهای مشابه دوکسوروبیسین افزایش یافت که این افزایش از لحاظ آماری معنادار نبود (مقدار - P به ترتیب برابر است با $0/993$ و $0/891$).

همان‌گونه که در جدول ۱ مشخص است، میانگین کاتالاز در گروه کنترل - دوکسوروبیسین 10 و 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل - سالین کاهش یافته است که میزان کاتالاز در گروه $C/DXR20$ کاهش معناداری در مقایسه با گروه‌های C/SAL و $C/DXR10$ داشته است (مقدار - P به ترتیب برابر است با $0/003$ و $0/004$). همچنین میزان کاتالاز در گروه‌های $3wEX/SAL$ و $6wEX/SAL$ در مقایسه با گروه C/SAL افزایش داشت و این افزایش در گروه $6wEX/SAL$ در مقایسه با گروه C/SAL معنادار بود (مقدار - P برابر است با $0/001$).

از سوی دیگر اجرای ۳ و شش هفته تمرین هوازی و تزریق دوکسوروبیسین با دوزهای 10 و 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش مقادیر کاتالاز نسبت به گروه‌های تمرین ۳ و شش هفته‌ای سالین شد. با وجود موارد مذکور، در گروه تمرین شش هفته‌ای - دوکسوروبیسین 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم، افزایش 10% در مقدار کاتالاز بر اثر ورزش، نسبت به گروه کنترل - دوکسوروبیسین 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم (مقدار - P برابر است



نمودار ۲: تغییرات مقادیر کاتالاز در گروه‌های مختلف تحقیق متعاقب اجرای سه و شش هفته تمرین استقامتی

* نشان‌دهنده ی میزان معناداری نسبت به گروه C/SAL .

F نشان‌دهنده ی میزان معناداری نسبت به گروه $C/DXR20$

نشان‌دهنده ی میزان معناداری نسبت به گروه $3wEX/SAL$

Y میزان معناداری نسبت به گروه $6wEX/SAL$ است.

بحث:

سالین بود (مقدار - P به ترتیب برابر است با $0/003$ و $0/000$). این تغییرات بیانگر اثر سمیت دوکسوروبیسین و استرس اکسایشی بافت کبدی است. از سوی دیگر، نتیجه اصلی تحقیق

یافته‌های پژوهش حاضر حاکی از افزایش معنادار مقادیر پروتئین شوک گرمایی و کاهش معنادار میزان کاتالاز در گروه کنترل - دوکسوروبیسین 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل -

مسمومیت کبدی ناشی از دوکسوروبیسین مورد استفاده قرار گیرد [۱۸].

از سوی دیگر، بررسی این شاخص به همراه شاخص پروتئین شوک گرمایی می‌تواند اندکی روشن‌کننده اثر شاخص‌های استرس اکسایشی باشد. این نتیجه‌گیری مبتنی بر مشاهده افزایش این شاخص در گروه‌های تمرینی ۳ و شش هفته‌ای و دریافت‌کننده دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از دوکسوروبیسین است. پروتئین شوک گرمایی در هسته و سیتوپلاسم قرار دارد و یکی از شاخص‌های استرسی است. مشخص شده است که پروتئین‌های شوک گرمایی که به پروتئین‌های استرسی نیز معروف‌اند، به‌عنوان نگهدارنده قوی سلولی عمل می‌کنند و در پاسخ به محرک‌های مختلف فیزیولوژیکی و محیطی از جمله دارو درمانی‌های ضد سرطانی تحریک‌شده و به سلول اجازه می‌دهند تا در شرایط بحرانی حیات خود را حفظ کند [۱۹، ۲۰]. ترشح این پروتئین‌ها در پاسخ به استرس‌های سلولی مختلف و ناهنجاری‌های محیطی و فیزیولوژیکی تحریک می‌شود و بازداری ترشح یا عدم حضور پروتئین شوک گرمایی منجر به افزایش قابلیت آسیب‌پذیری سلولی در مقابل استرس‌ها می‌شود. تنظیم مثبت پروتئین شوک گرمایی با تحمل گرمایی و مقابله با استرس‌های سلولی همبسته است و محافظت در مقابل اثرات سمی شوک‌های حرارتی را بر عهده دارد [۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴]. یکی از اثرات سمپاتیک و محافظتی فعالیت بدنی شامل القاء پروتئین شوک گرمایی است که منجر به اثر حفاظتی معناداری در مقابل هایپرترمی، افزایش میزان عوامل نکرورز توموری بافتی یا سرمی می‌شود [۲۳]. پروتئین شوک گرمایی در بازه گسترده‌ای از سلول‌ها و بافت‌ها مثل لکوسیت‌ها، قلب و مغز در پاسخ به تمرین ورزشی ترشح می‌شود [۲۵]. به‌عنوان یک نتیجه مشخص از مطالعه حاضر، می‌توان گفت که تزریق دوکسوروبیسین در پی دوره تمرینی کوتاه‌مدت و بلندمدت منجر به افزایش میزان پروتئین شوک گرمایی و افزایش اثرات محافظتی آن در مقابل آسیب بافتی ناشی از دوکسوروبیسین می‌شود. این نتیجه همسو با یافته‌های کاوازیس و همکاران، آسانسو و همکاران، هنینگر و همکاران بود که گزارش‌هایی مبنی بر افزایش سمیت قلبی و کبدی ناشی از دوکسوروبیسین و نقش حمایتی تمرینات استقامتی در جهت کاهش این عوارض ارائه کردند [۲۶، ۲۷، ۲۸].

هیچ تفاوت آماری معناداری بین دوره ورزشی کوتاه و بلندمدت دیده نشد، اما میزان پروتئین شوک گرمایی در دوره ورزشی طولانی‌مدت از کوتاه‌مدت بیش‌تر بود. همچنین از بین دوزهای مختلف دوکسوروبیسین، دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معناداری نسبت به گروه‌های کنترل و تمرینی مشابه

حاضر حاکی از آن است که میزان کاتالاز در گروه با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دوکسوروبیسین و دوره ورزشی شش هفته‌ای به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل با دوز مشابه افزایش داشت.

سمیت قلبی و کبدی ناشی از درمان دوکسوروبیسین از مهم‌ترین عوارض این دارو است. سازوکارهای متعددی برای سمیت قلبی و کبدی مرتبط با دوکسوروبیسین از جمله آسیب قلبی ناشی از رادیکال‌های آزاد، آسیب میتوکندری، انتشار آمین‌های تنگ‌کننده عروق و سمیت سلولی پیشنهاد شده است [۷، ۸، ۱۱]. یکی از وظایف مهم کبد، سم‌زدایی از بدن است که این کار توسط برخی از عامل‌های استرسی در بدن انجام می‌شود [۱۱، ۱۲]. پژوهش‌ها نشان دادند کاتالاز به‌عنوان هموپروتئینی که در پروکسی زوم‌ها قرار گرفته است، منجر به تجزیه H_2O_2 به آب و اکسیژن شده و ضمن دارا بودن مسئولیت محافظت از سلول در مقابل آسیب اکسایشی، وظیفه خنثی کردن رادیکال‌های آزاد از طریق محدود کردن انباشت O_2 و H_2O_2 که در طول فرایند معمول متابولیسم هوازی اتفاق می‌افتد را به عهده داشته و بدین ترتیب از آسیب سلولی جلوگیری می‌کند [۱۳، ۱۴]. بازداری آنزیم‌هایی مثل کاتالاز که در زدودن رادیکال‌های آزاد از بدن نقش دارند، منجر به انباشت H_2O_2 و بالا رفتن پراکسیداسیون لیپیدی و مدولاسیون DNA، تغییر بیان ژن و نیز مرگ سلولی می‌شود [۱۵، ۱۶]. کاتالاز به بیانی شاخص استرس اکسایشی در بدن به شمار می‌رود [۱۲]. در پژوهش حاضر، تزریق دوکسوروبیسین با دوز ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم با نشانه‌های افزایش میزان پروتئین شوک گرمایی و کاهش میزان کاتالاز در بافت قلب و کبد موجب سمیت قلبی و کبدی در موش‌های صحرایی نر شد که نتیجه همسو با یافته‌های ویسوانتا و همکاران بود که گزارش کردند القای دوکسوروبیسین به‌واسطه کاهش در مقادیر آنتی‌اکسیدانتی و افزایش شاخص‌های اکسایشی منجر به کاربومپاتی می‌شود [۱۷]. از سوی دیگر، میزان کاتالاز در گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دوکسوروبیسین و اجرای دوره ورزشی شش هفته‌ای به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل دریافت‌کننده دوز مشابه، افزایش داشت. دلیل این افزایش انباشتگی کاتالاز می‌تواند ناشی از حذف میزان بیشتری از رادیکال‌ها و سموم از بافت موردنظر باشد. نتیجه یادشده همسو با یافته ذوالفقارزاده و همکاران بود که گزارش کردند اجرای تمرینات هوازی قبل از تزریق دوکسوروبیسین عدم تعادل اکسیدانتی/آنتی‌اکسیدانتی ناشی از سمی بودن دارو را در بافت کبد معکوس کرده و پیشنهاد دادند که تمرین هوازی منظم می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد تمرینی در جهت کاهش

آنتی‌اکسیدانتی در زدودن ذرات اکسیژن فعال از چرخه خون می‌شوند، همسو است [۳۵، ۱۴]. در پژوهش آگونوسکی و همکاران عدم تغییر مقادیر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی را متعاقب تمرینات استقامتی گزارش کردند [۳۶]. علت عدم تغییر فعالیت آنزیم‌های اکسایشی طی این پژوهش را می‌توان چنین توجیه کرد که ممکن است تمرین به کار گرفته‌شده برای افزایش میزان تولید گونه‌های اکسیژن فعال بافت کبد کافی نبوده باشد. علت ناهم‌سویی این پژوهش با تحقیق حاضر می‌تواند با عواملی از قبیل طول دوره تمرینی، شدت و مدت تمرین مرتبط باشد.

نتیجه‌گیری:

می‌توان گفت تمرینات منظم استقامتی از طریق بهتر کردن عملکرد سیستم‌های آنتی‌اکسیدانتی، استرس اکسایشی و در نتیجه سمیت کبدی را تقلیل می‌دهد. تحقیق حاضر نشان می‌دهد که بهره‌گیری از شیوه‌های غیر دارویی مانند تمرینات استقامتی میان‌مدت و کوتاه‌مدت قبل از تزریق داروی دوکسوروبیسین می‌تواند از طریق افزایش سازوکارهای حمایتی و کاهش استرس اکسایشی از سمیت کبدی ناشی از دارو بکاهد و به‌عنوان یک رویکرد پیشگیرانه قبل از درمان دوکسوروبیسین مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی:

محققان از گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مازندران و همین‌طور مدیریت محترم انستیتو پاستور آمل به خاطر فراهم‌سازی زمینه اجرای این پروژه کمال قدردانی و تشکر را دارند.

تعارض منافع:

دریافت‌کننده سالیان نشان داد. در مجموع، ورزش با توانایی افزایش میزان پروتئین شوک گرمایی می‌تواند باعث افزایش میزان کاتالاز و متعاقب آن سرکوب پاسخ استرسی بدن شود. بر طبق مطالعات بیندر و همکاران و نیشیکا و همکاران این افزایش در میزان پروتئین شوک گرمایی می‌تواند از طریق کمک به افزایش اثربخشی داروهای تزریقی نیز همبسته باشد [۲۹، ۳۰]. در سال‌های اخیر، محققان سازوکارهای متعددی برای توضیح سمی شدن به‌وسیله دوکسوروبیسین بیان کرده‌اند که استرس اکسایشی، بر هم خوردن تنظیم یونی و دگرگونی برنامه‌های بیان ژنی مشخصی که باعث القاء سمیت در بافت‌های مختلف و استرس اکسایشی می‌گردد از این جمله‌اند [۳۱، ۳۲]. قبلاً نیز سازوکارهایی همچون کاهش میزان آنتی‌اکسیدانتی و گروه‌های سولفیدریل، بازداری اسیدنوکلیک و سنتز پروتئینی، آزادسازی آمین‌های وازواکتین، تغییر عامل‌های آدرنرژیک و کاهش بیان ژن‌های خاص در این رابطه ذکر شده است. به‌هرحال، سازوکارهای پیشنهادی سمیت دوکسوروبیسین باعث افزایش استرس اکسایشی و به‌عنوان شاهدی برای افزایش میزان ذرات ری اکتیواکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدی است [۳۳، ۳۴]. مطالعه حاضر تغییرات معنادار آسیب اکسایشی در بافت کبدی پس از تزریق دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دوکسوروبیسین را آشکار می‌کند. سازوکار احتمالی دیگری که می‌تواند سمیت کبدی پس از تزریق هردو دوز دوکسوروبیسین را توضیح دهد، بر هم خوردن تعادل بین سیستم اکسیدانتی و آنتی‌اکسیدانتی است. محققان پیشنهاد می‌کنند که ناهنجاری‌های اکسیداتیو همچون تزریق دوکسوروبیسین در اندام‌های مختلفی باعث تغییر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی می‌شود [۳۵]. در پژوهش حاضر مشخص شد تمرینات منظم استقامتی منجر به کاهش استرس اکسایشی شده و در نتیجه مسمومیت کبدی کاهش یافته است. این یافته با یافته‌های آسناسو و همکاران، تسیت سیمکو و همکاران که گزارش کردند تمرینات منظم منجر به فعال شدن سازوکارهای داخلی برای زدودن پروتئین‌های اکسیداتیو و یا عملکرد بهتر سیستم‌های

References:

- Lee I.S, Chu J, Heo D.F, Calvisi Z, Sun T, Roskams A, Durnez, A.J. Demetris. Classification and prediction of survival in hepatocellular carcinoma by gene expression profiling. *J.S. Hepatology*, 2004; 667–676.
- X.P. Chen, F.Z. Qiu, Z.D. Wu, Z.W. Zhang, Z.Y. Huang, Y.F. Chen, *Br. Long-term outcome of resection of large hepatocellular carcinoma*, *J. Surg.* 93, 2006; 600–606.
- Kavazis AN, Smuder AJ, Min K, et al. Short-term exercise training protects against doxorubicin-induced cardiac mitochondrial damage independent of HSP72. *Am J Physiol Heart* 2010; 299: 1515–1524.

4. Maksimenko A, Dosiob F, Mougina J, et al. A unique squalenoylated and nonpegylated doxorubicin nanomedicine with systemic long-circulating properties and anticancer activity. Published online January 2, 2014; E217–E226.
5. Szabolcs G, Csaba H, Petra L, et al. High Throughput Screening Identifies a Novel Compound Protecting Cardiomyocytes from Doxorubicin-Induced Damage. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015; Article ID 178513, 1-12 pages
6. Ashrafi J, Dabidi Roshan V. Is Short-term Exercise a Therapeutic Tool for Improvement of Cardioprotection Against DOX-induced Cardiotoxicity? An Experimental Controlled Protocol in Rats. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2012; 13: 4025-4030.
7. Ascensao A, Oliviera PJ, Magalhaes, J. Exercise as a beneficial adjunct therapy during Doxorubicin treatment—Role of mitochondria in cardio protection. *Int J Cardiol* 2012; 156: 4-10.
8. Martins R A, Minari AL, Chaves MD, et al. Exercise preconditioning modulates genotoxicity induced by doxorubicin in multiple organs of rats. *Cell Biochem Funct* 2012; 30: 293-296.
9. Li M, XiongZh G. Ion channels as targets for cancer therapy. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2011; 1: 3(2):156-166.
10. Wang G, Zhang J, Liu L, et al. Quercetin potentiates doxorubicin mediated antitumor effects against liver cancer through p53/Bcl-xl. *PLoS One*. Doi 2012; 10.1371.
11. Chen CT, Wang ZH, Hsu C.Ch, et al. In Vivo Protective Effects of Diosgenin against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Nutr* 2015; 7, 4938-4954; doi:10.3390/nu7064938
12. Cheung K G, Cole LK, Xiang B, et al. SIRT3 attenuates doxorubicin-induced oxidative stress and improves mitochondrial respiration in H9c2 cardiomyocytes. *JBC Papers in Press* 2015; M114.607960
13. Ascensao A, Magalhaes J, Soares J, et al. Endurance training attenuates doxorubicin-induced cardiac oxidative damage in mice. *Int J Cardiol* 2005; 100: 451–460.
14. Ascensao A, Magalhaes J, Soares JM, et al. Moderate endurance training prevents doxorubicin-induced in vivo mitochondriopathy and reduces the development of cardiac apoptosis. *Am J Physiol Heart CircPhysiol* 2005; 289: H722–H73.
15. Serpil C, Gulsen C, Fatma G. O, et al. Hepatoprotective Effect of 17 β -stradiol as Antioxidant Modulators Against Stress Damage. *Hepat Mon* 2015; 15(2): e22633.
16. Tayeb W, Nakbi A, Trabelsi M, et al. Hepatotoxicity induced by sub-acute exposure of rats to 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid based herbicide “Désormone lourde”. *J.Hazard Mater* 2010; 180: 225-233.
17. Viswanatha SA, Gulliaya S, Thippeswamy A, et al. Cardioprotective effect of curcumin against oxorubicin-induced myocardial toxicity in albino rats. *Indian J Pharmacol* 2012; 44(1): 73–7.
18. Zolfagharzadeh F, Dabidi Roshan V. Pretreatment hepatoprotective effect of regular aerobic training against hepatic toxicity induced by doxorubicin in rats. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2013;14(5):5227-32.
19. Asea BK, Pedersen. *Heat Shock Proteins and Whole Body Physiology*, Springer Science+Business Media B.V 2010; 57–83 & 217–240.
20. Gibson OR, Meel J, ATaylor L, et al. Isothermic and fixed-intensity heat acclimation methods elicit equal increases in Hsp72 mRNA. *Scand J Med Sci Sports* 2015; 25 (Suppl. 1): 259–268
21. Injac R, Perse M, Cerne M, et al. Protective effects of fullereneol C60(OH)24 against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats with colorectal cancer. *Biomater* 2009; 30: 1184-96.
22. Krause M, Rodrigues-Krause J. Extracellular heat shock proteins (eHSP70) in exercise: Possible targets outside the immune system and their role for neurodegenerative disorders treatment. *Med Hypothesis* 2011; 76: 286-290.
23. Ruell PA, Thompson MW, Hoffman KM. Heat shock proteins as an aid in the treatment and diagnosis of heat stroke. *J Thermal Biol* 2009; 34, 1-7.
24. Brian G, Vicente R, Jamie A, et al. HSP72 Is a Mitochondrial Stress Sensor Critical for Parkin Action, Oxidative Metabolism, and Insulin Sensitivity in Skeletal Muscle. *Diabetes* 2014; 63:1488–1505
25. Dabidi-Roshan V, Rahnama N, Abdi Hamzehkolaei H, et al. Heat shock protein responses to eccentric weight or treadmill exercise in active young females *Sport Sci Health* 2009; 5: 75–80.
26. Kavazis AN, Smuder AJ, Min K, et al. Short-term exercise training protects against doxorubicin-induced cardiac mitochondrial damage independent of HSP72. *Am J Physiol Heart CircPhysiol* 2010; 299(5):H1515-24.
27. Ascensão A, Oliveira PJ, Magalhães J. Exercise as a beneficial adjunct therapy during Doxorubicin treatment—Role of mitochondria in cardioprotection. *Int J Cardiol* 2012; 156:4–10.
28. Henninger C, Huelsenbeck J, Huelsenbeck S, Grösch S, Schad A, Lackner KJ, et al. The lipid lowering drug lovastatin protects against doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012;261(1):66-73.
29. Binder RJ. Heat-shock protein-based vaccines for cancer and infectious disease. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7 (3): 383–93.
30. Nishikawa M, Takemoto S, Takakura Y. Heat shock protein derivatives for delivery of antigens to antigen presenting cells". *Int J Pharm* 2008; 354: (1–2): 23–7.
31. Raschi, E, Vasina V, Ursino M, et al. Anticancer drugs and cardiotoxicity: Insights and perspectives in

- the era of targeted therapy. *Pharmacol Ther* 2010;125:196–218.
32. Swamy AV, Gulliaya S, Thippeswamy A, et al. Cardioprotective effect of curcumin against doxorubicin- induced myocardial toxicity in albino rats. *Indian J Pharmacol* 2012; 44: 73–77.
33. Chatterjee K, Zhang J, Honbo N, et al. Doxorubicin Cardiomyopathy. *Cardiology* 2010; 115:155–162.
34. Chen B, Peng X, Pentassuglia L, et al. Molecular and cellular mechanisms of anthracycline cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol* 2007;7: 114–121.
35. Tsitsimpikou C, Kioukia-Fougia N, Tsarouhas K, et al. Administration of tomato juice ameliorates lactate dehydrogenase and creatinine kinase responses to anaerobic training. *Food Chem Toxicol* 2013; 10.1016.
36. Ogonovsky H, Sasvari M, Dosek A, et al. The effects of moderate, strenuous and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. *Can J Appl physiol* 2005; 30: 186-95.

The pretreatment effects of endurance training on doxorubicin-induced stress in Wister rats

Jamali Shabnam¹, Dabidi Roshan valiollah^{*2}, Afshan Samaneh³

Received: 2/26/2016

Revised: 11/11/2016

Accepted: 6/02/2016

1. Dept of Exercise Physiology, Islamic Azad University of Sari, Sari, Iran

2. Dept of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, University of Mazandaran, Mazandaran, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.1, Spring 2016

Par J Med Sci 2016;14(1):45-54

Abstract

Introduction:

This study aimed to investigate the preventive effects of resistance training on heat shock protein and the hepatic level of catalase in Wister rats following acute administration of doxorubicin.

Materials and Methods:

The statistical population consisted of 72 male rats (60 days) randomly divided into control and exercise groups. The exercise group was then divided into two groups of 3 and 6 weeks training. At the end of the exercise period, the exercise groups were randomly divided into subgroups to receive specific doses of doxorubicin 24 hours after the last training session (10 mg/kg bw and 20 mg/kg bw) and saline 0.9 percent. After the biopsy, ELISA method was used to measure levels of HSP72 and catalase in the liver.

Results:

A significant increase was observed in HSP72 levels in the control/DXR20 groups compared to control/saline groups ($p=0.001$). Injecting a dose of 20 mg/kg bw after 3 and 6 weeks training caused a significant increase in catalase, compared to the 3 and 6 weeks exercise/saline groups ($p=0.001, 0.003$).

Conclusion:

The use of non-pharmacological methods such as medium-term and short-term resistance exercise before administering doxorubicin can reduce drug-induced liver toxicity through supportive mechanisms and decreasing the oxidative stress and can be used as a protective approach before administering doxorubicin.

Keywords: Heat shock protein 72, Catalase, Doxorubicin, Oxidative Stress

* Corresponding author, Email: vdabidiroshan@yahoo.com