

تأثیر هم‌زمان تمرین تناوبی شدید و کروسین بر استرس اکسیداتیو بافت قلب رت‌های نر در معرض القاء دوکسوروبیسین

رحمت اله خانمحمدی^۱، محمد علی آذربایجانی^{۱*}، مقصود پیری^۱، لعیاسادات خرسندی^۱

^۱گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران، ^۲گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۱

چکیده

زمینه و هدف: بیماری‌های قلبی - عروقی از دلایل عمده مرگ و میر در دنیا می‌باشد. استرس اکسیداتیو نقش عمده‌ای در بروز و توسعه بیماری‌های قلبی - عروقی دارد. فعالیت بدنی وضعیت آنتی‌اکسیدانی بافت قلب را بهبود می‌بخشد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی سطوح شاخص‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی بافت قلب رت‌های نر قرارگرفته در معرض دوکسوروبیسین، پس از هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف کروسین بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش نر نژاد ویستار با میانگین سنی ۸ هفته و میانگین وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم به صورت تصادفی در ۵ گروه کنترل سالم (سالین)، دوکسوروبیسین (کنترل بیمار)، دوکسوروبیسین- کروسین، دوکسوروبیسین- تمرین، و دوکسوروبیسین- تمرین- کروسین، قرار گرفتند. گروه‌های تمرینی، دوره را با انجام ۲ تناوب شدید در هفته اول آغاز و با انجام ۸ تناوب شدید در هفته‌های آخر، به پایان رساندند. پس از ۸ هفته سطوح مالون دی آلدئید (MDA) و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) در بافت قلبی اندازه‌گیری شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های تی مستقل، تحلیل واریانس دو طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تحلیل داده‌ها افزایش معنی‌داری را در سطح مالون دی‌آلدئید و کاهش معنی‌داری را در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز بافت قلب گروه دریافت‌کننده دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کنترل سالم نشان داد ($p=0/001$). همچنین نتایج کاهش معنی‌داری را در سطح مالون دی‌آلدئید در نتیجه دریافت تمرین ($p=0/001$)، کروسین ($p=0/001$) و ترکیب تمرین و کروسین ($p=0/025$) و افزایش معنی‌داری را در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در نتیجه دریافت تمرین ($p=0/001$)، کروسین ($p=0/001$) و ترکیب تمرین و کروسین ($p=0/005$) نشان داد. علاوه بر این مشخص شد در مقایسه بین گروه‌ها، بین تأثیر تمرین و کروسین به تنهایی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد، اما بین تأثیر ترکیبی آن‌ها و تأثیر هر کدام از این دو مداخله (تمرین و کروسین) به تنهایی تفاوت معنی‌داری وجود داشت و این دو، اثر همدیگر را تقویت کردند ($p=0/001$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین‌های منظم تناوبی شدید، مکمل کروسین و یا ترکیبی از این دو می‌توانند با کاهش سطوح شاخص اکسیداتیو، مالون دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز بافت قلب، اثرات محافظتی در برابر آسیب اکسیداتیو بافت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین داشته باشد. همچنین به نظر می‌رسد به کار بردن ترکیبی این دو مداخله راهبرد پیشگیرانه و درمانی بهتری، نسبت به کاربرد تکی آن‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، کروسین، دوکسوروبیسین، استرس اکسیداتیو

نویسنده مسئول: محمد علی آذربایجانی، تهران، دانشگاه آزاداسلامی، واحد تهران مرکزی، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: ali.azarbayjani@gmail.com

بروز بیماری‌های قلبی - عروقی از مهم‌ترین علل مرگ و میر در دنیا است (۱). مطالعات بی‌شماری نشان داده که استرس اکسیداتیو به عنوان عامل پیشبرنده در پاتوژنز برخی بیماری‌های غیر واگیر و مزمن نظیر؛ دیابت، سرطان، بیماری مزمن کلیوی، بیماری‌های قلبی - عروقی و فرآیندهایی همچون پیری محسوب می‌شود (۲ و ۳). استرس اکسیداتیو، شرایطی است که در آن توازن بین تولید رادیکال‌های آزاد و خنثی‌سازی آن‌ها به وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها مختل شده و منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد و محصولات آن‌ها در داخل سلول‌ها می‌شود (۴). از منابع مهم تولید استرس اکسیداتیو در بدن، آلودگی‌های محیطی، اشعه‌ها و پرتوهای نوری و ترکیب‌های شیمیایی مانند؛ داروهای ضد سرطان، دود سیگار و الکل می‌باشند (۵). یکی از مؤثرترین داروها، آنتراسیکلین است که برای درمان انواع سرطان‌ها، از جمله؛ لنفوم، لوسمی و تومورهای جامد به کار برده می‌شود (۶). با این حال استفاده بالینی از آن به دلیل مسمومیت قلبی - عروقی محدود شده است (۷). مطالعات نشان داده‌اند دوکسوروبیسین از طریق افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، زانتین اکسیداز (XO)، مالون دی آلدئید (MDA)، اختلال عملکرد آدرنژیکی، اختلال انتشار کلسیم و انتشار سیتوکین‌های قلب و عروق، کاهش میزان و فعالیت گلوکوتاتیون پروکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و سمیت قلبی می‌شود (۸ و ۷). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپر اکسیددیسموتاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز اولین خط دفاعی در برابر آسیب بافت قلب ناشی از گونه‌های اکسیژن واکنشی

می‌باشند (۹). همچنین پراکسیداسیون لیپیدی که معمولاً با اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA)، تعیین می‌شود، فرآیندی مرتبط با استرس اکسیداتیو است که به طور بالقوه به علت غیر قابل کنترل بودن، پیشروی خود به خودی آن و آسیب به غشاءها و لیپیدها مضر می‌باشد و غلظت MDA در قلب بیماران قلبی و بیماران سرطانی دریافت‌کننده داروهای شیمی‌درمانی افزایش می‌یابد (۱۰). امروزه مداخلات بسیاری از قبیل عوامل دارویی، تغییر در عادات غذایی، مکمل‌های غذایی و ورزش منظم جهت پیشگیری و کنترل شرایط اکسیداتیو در قلب و بیماری‌های قلبی - عروقی مرتبط با آن به کار برده می‌شود (۱۱). شواهد علمی نشان می‌دهد فعالیت بدنی می‌تواند به طور قابل توجهی سطح MDA را در بافت قلب و نمونه خون کاهش و سطوح SOD و GPx را در بافت قلب افزایش دهد (۱۲ و ۱۳). همچنین مشخص شده که فعالیت بدنی هوازی اثر محافظتی در برابر عملکرد قلبی ناشی از سمیت دوکسوروبیسین دارد (۱۴ و ۱۵). با وجود این، بیشتر مطالعات انجام شده در زمینه تأثیر فعالیت بدنی در پیشگیری یا درمان سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین بر تمرین هوازی تداومی تمرکز کرده و ممکن است برای بررسی تأثیر سایر روش‌های تمرینی، تحقیقات بیشتری لازم باشد. شواهد رو به رشدی نشان می‌دهد که تمرین تناوبی شدید (HIIT)^(۱) سازگاری‌های فیزیولوژیکی قابل مقایسه‌ای را با تمرین تداومی با شدت متوسط با وجود زمان کم و کاهش حجم کل فعالیت، ایجاد می‌کند (۱۶). از سوی دیگر گزارش شده است که به دنبال فعالیت‌های بدنی شدید با افزایش گونه‌های واکنش

1-Crocin

گر اکسیژن و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی از جمله MDA و عدم تعادل بین فشار اکسایشی و دفاع ضد اکسایشی منجر به کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام می شود (۱۷). در مطالعه‌ای نشان داده شده است که بعد از یک جلسه تمرین شدید، میزان مالون دی آلدئید پلاسما در هر دو گروه مردان و زنان افزایش یافت (۱۸). با این حال بسیاری از محققین گزارش کردند که سازگاری‌های متابولیکی، عضلانی و قلبی - عروقی در جمعیت‌های سالم و بیمار وابسته به شدت فعالیت بدنی است و اثرات مفید تمرین تناوبی شدید نسبت به تمرین هوازی تداومی در حمایت از قلب، بسیار بیشتر و قابل قبول تر می باشد (۲۱-۱۹). این یافته‌ها از دیدگاه بهداشت عمومی اهمیت دارد چرا که "کمبود وقت" به عنوان یکی از رایج‌ترین موانع برای مشارکت منظم در فعالیت‌های بدنی به حساب می آید (۲۳ و ۲۲). با وجود این و علی‌رغم اثبات مزایای تمرین تناوبی شدید نسبت به تمرین تداومی با شدت متوسط در محافظت از قلب در برابر بیماری‌ها، تأثیر تمرین‌های تناوبی شدید بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو که از مهم‌ترین عوامل بروز بیماری‌های قلبی عروقی می باشد، کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. در این راستا لو و همکاران، در مطالعه‌ای گزارش کردند تمرین تناوبی شدید در مقایسه با تمرین هوازی تداومی باعث افزایش بیشتری در ظرفیت تمرینی، عملکرد قلبی، کسر تزریقی بطن چپ، کاهش نشانگر استرس اکسیداتیو (مالون دی آلدئید) و افزایش غلظت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلو‌تاتیون پروکسیداز در رت‌های مدل القای سکتة شد (۲۴). همچنین فتاحی بافقی و همکاران، با بررسی تأثیر تمرین‌های شدید تناوبی و مکمل کورکومین بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در بافت

قلب موش‌های دیابتی به این نتیجه رسیدند که تمرین تناوبی شدید و مکمل کورکومین هر کدام به تنهایی موجب افزایش قابل توجهی در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز شدند، اگر چه این دو مداخله تأثیرهای یکدیگر را تقویت نکردند (۲۵).

از سوی دیگر، نتایج سایر پژوهش‌ها استفاده از برخی داروها و مکمل‌های آنتی اکسیدانی و در نهایت گیاهان دارویی را برای گسترده شدن رویکردهای درمانی داروهای ضد سرطان، پیشنهاد کرده‌اند (۲۶ و ۲۷). یکی از گیاهان سودمند در این زمینه، زعفران است که دارای خواص و کاربردهای دارویی و درمانی متعددی می باشد (۲۸). از بین اجزای فعال زعفران، کروسین عامل اصلی فعالیت‌های متعدد دارویی آن است (۲۹). کروسین یکی از مهم‌ترین کاروتنوئیدهای زعفران و عامل ایجاد کننده رنگ زعفران بوده و جزء معدود کاروتنوئیدهای محلول در آب موجود در طبیعت است. از جمله خواص کروسین‌ها می‌توان به آثار ضد آتروژنی^(۱) و ضد لخته، کاهش لیپیدهای سرم، بهبود کارکرد کلیه، ضدالتهاب، آنتی اکسیدان، ضدسرطان و ضدتومور و ... اشاره کرد (۳۰). عصاره آبی زعفران و کروسین در پیش‌گیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از ایسکمی برقراری مجدد جریان خون^(۲) در موش‌های صحرایی، مفید می باشند (۳۱). گویال و همکاران نشان دادند که کروسین موجود در زعفران، قلب موش‌های صحرایی را در برابر اثرات توکسیک ایزوپروترونول^(۳) از طریق تعدیل تنش‌های

1- Antiatherogenic
2- Ischemia-Reperfusion
3- Isoproterenol

جندی شاپور اهواز تهیه و پس از ورود به محیط پژوهش در قفس‌های تمیز و شفاف تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت هوای 35 ± 5 درصد با تهویه مناسب و با دسترسی نامحدود به آب و غذا به مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش‌ها برای ایجاد تمرینی سازگاری جهت تمرین روی نوار گردان ویژه جوندگان، شامل ۱۰ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۸ تا ۱۰ متر در دقیقه در شیب صفر درجه و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه انجام شد. بعد از دو هفته برنامه سازگاری، موش‌های صحرایی به روش تصادفی در ۵ گروه، کنترل سالم (سالین)، دوکسوروبیسین (کنترل بیمار)، دوکسوروبیسین و کروسین، دوکسوروبیسین و تمرین، دوکسوروبیسین، تمرین و کروسین قرار گرفتند. کلیه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این تحقیق بر اساس موازین اخلاقی موصوب با استانداردهای اخلاقی در تحقیق‌های وزارت علوم، و با کد IR.SSRI.REC.1397.296 رعایت گردید.

برنامه تمرینی اصلی شامل تناوب‌های دو دقیقه‌ای دویدن روی نوارگردان بدون شیب، در ۸ هفته و هر هفته به مدت پنج روز اجرا شد. مرحله گرم کردن و سرد کردن در ابتدا و انتهای مرحله اصلی تمرین با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه (۱۶ تا ۲۰ متر در دقیقه) به مدت ۵ دقیقه بر روی نوارگردان انجام شد. تمرین اصلی شامل: انجام ۲ تناوب دو دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول (۳۲ متر در دقیقه)، ۴ تناوب دو دقیقه‌ای با ۸۵ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم (۳۴ متر در دقیقه) و ۶ تناوب دو دقیقه‌ای با ۹۰ درصد

اکسیداتیو محافظت می‌کند (۳۲). همچنین مشخص شده است کروسین سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین را با تنظیم منفی مسیرهای التهابی و آپوپتیک در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد. ثابت شده است کروسین باعث کاهش شاخص‌های اکسایشی مالون دی‌آلدئید و زانتین اکسیداز بافت کلیه ناشی از سمیت استرپتوزوتوسین در رت‌های دیابتی می‌شود و فعالیت آنزیم گلوکاتایون را در این رت‌ها افزایش می‌دهد (۳۳). ثابت شده است کروسین باعث کاهش شاخص‌های اکسایشی مالون دی‌آلدئید و زانتین اکسیداز بافت کلیه ناشی از سمیت استرپتوزوتوسین در رت‌های دیابتی می‌شود و فعالیت آنزیم گلوکاتایون را در این رت‌ها افزایش می‌دهد (۳۴). با وجود مطالعات انجام شده، اثر حفاظتی و هم‌زمان تمرین‌های تناوبی شدید همراه با مکمل کروسین با در نظر گرفتن خواص مستند آنتی‌اکسیدانی آن، به عنوان یک راه‌برد کمک درمانی در طول درمان با دوکسوروبیسین در آزمودنی‌های جوان، دیدگاه تازه‌ای است که تاکنون مورد توجه پژوهشگران قرار نگرفته است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات هم‌زمان تمرین‌های تناوبی شدید همراه با مصرف کروسین حین درمان با دوکسوروبیسین بر سطوح فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی (در این تحقیق MDA) و آنتی‌اکسیدانی (SOD و CAT) در بافت قلب رت‌های نر در معرض القاء دوکسوروبیسین انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۵۰ سر رت نر ویستار با میانگین سنی ۸ هفته و میانگین وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم از مرکز پژوهش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه

اول تا انتهای هفته هفتم، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین و ۲۴ ساعت قبل از جلسه تمرین بعدی، تزریق شد. همچنین با توجه به اثرات احتمالی ناشی از تزریق در گروه‌های دریافت‌کننده دوکسوروبیسین، به‌منظور یکسان‌سازی شرایط برای همه آزمودنی‌ها و خنثی نمودن اثر تزریق، گروه کنترل سالم نیز به همان میزان سالیسین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) دریافت کرد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه‌روزی تمام تزریق‌های همگن و حدود ساعت ۱۰ صبح صورت گرفت (۳۶).

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها پس از ناشتایی شبانه نمونه‌برداری شدند ابتدا حیوان با ترکیبی از داروی کتامین و زایلازین (به ترتیب ۹۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند و پس از شکافتن حفره شکمی، بافت قلب به دقت جدا و پس از شستشو با آب مقطر و توزین وزن، بلافاصله در فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری سطوح MDA، SOD و CAT قرار گرفتند.

سطوح مالون دی‌آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به وسیله کیت‌های مخصوص شرکت زلیبو، ساخت کشور آلمان و به روش رنگ‌سنجی آنزیمی اندازه‌گیری شد.

فعالیت مالون دی‌آلدئید به روش Satho اندازه‌گیری شد. در این روش با استفاده از کیت تجاری مخصوص ساخت شرکت زلیبو کشور آلمان (ZB-MDA-96A)، به ۵۰۰ میکرولیتر بافت هموژنه ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱۰ درصد اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی را برداشته و ۲ میلی‌لیتر اسید تیوباریتوریک

سرعت بیشینه از ابتدای هفته سوم (۳۶ متر در دقیقه)، که شدت تا پایان دوره حفظ شد، ولی از ابتدای هفته چهارم تا پایان دوره تعداد ۸ تناوب شدید انجام شد. تناوب‌های با شدت پایین شامل دو دقیقه با شدت ۴۰ درصد سرعت بیشینه از هفته اول تا پایان هفته سوم (۱۵ متر در دقیقه) و ۳۰ درصد سرعت بیشینه (۱۲ متر در دقیقه) از ابتدای هفته چهارم به بعد تا پایان تمرین اجرا شد. از این رو زمان کل تمرین در هفته اول ۱۶ دقیقه، در هفته دوم ۲۴ دقیقه، هفته سوم ۳۲ دقیقه و از ابتدای هفته چهارم به بعد ۴۰ دقیقه بود. این پروتکل بر اساس پروتکل رضایی و همکاران طراحی شد، با توجه به اثرات و عوارض داروی دوکسوروبیسین بر عملکرد موش‌های صحرایی، شدت آن تعدیل گردید (۳۵).

کروسین به شکل پودر آماده در ویال‌های یک گرمی و پنج گرمی با درجه خلوص ۹۸ درصد از شرکت سیگمای آمریکا خریداری شد. گروه‌های دریافت‌کننده مکمل و ترکیب تمرین و مکمل، در روزهای تمرین به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن مقدار ۱۰ میلی‌گرم کروسین حل شده در حجمی معادل ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نرمال سالیسین، به مدت ۸ هفته به صورت خوراکی (گاواژ) دریافت کردند. گروه‌های کنترل سالم و تیمار هم به همان میزان نرمال سالیسین، به‌صورت گاواژ دریافت کردند (۳۳).

داروی دوکسوروبیسین از شرکت بلژیکی اِبو خریداری شد و سپس برای تهیه دوز مورد نظر، ۷ دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم (دوز جمعی ۱۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با نرمال سالیسین رقیق شد. دوکسوروبیسین به میزان مورد نظر به وسیله سرنگ انسولینی به صورت زیر صفاقی هفت بار و در انتهای هر هفته، از انتهای هفته

۱۰۰× ده درصد با غلظت نهایی یک درصد اضافه شد. این محلول جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم به کار برده شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۰۵ میلی لیتر H_2O_2 ۳۰ میلی‌مولار به نمونه بافتی در بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار $pH=7$ شروع شد. سپس جذب در طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Unico S2100 ساخت کشور آمریکا قرائت شد. یک واحد فعالیت کاتالاز مقدار یک میکرومول از H_2O_2 است که در یک دقیقه تجزیه می‌شود. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید (۳۸).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیروویک و لوین، تی مستقل، آنالیز واریانس دوره‌ای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

تحلیل داده‌ها نشان داد القاء داروی دوکسوروبیسین باعث افزایش معنی‌داری در میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) و نیز کاهش معنی‌داری در میزان شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز بافت قلب گروه دوکسوروبیسین (کنترل بیمار) نسبت به گروه کنترل سالم شد ($p=0/001$) (جدول ۱). همچنین داده‌های مربوط به میانگین و انحراف‌معیار و نیز نتایج آزمون آنالیز واریانس دو راهه در گروه‌های تجربی کاهش معناداری را در سطح مالون دی‌آلدئید در نتیجه دریافت تمرین ($p=0/001$)، کروسین ($p=0/001$) و ترکیب تمرین و کروسین ($p=0/025$) و افزایش معنی‌داری را در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در نتیجه دریافت تمرین ($p=0/001$)، کروسین ($p=0/001$) و ترکیب

۰/۶۷ درصد اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر ۱- بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید، به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰ گرم سانتریفیوژ شد. جذب محلول رویی صورتی رنگ در طول موج ۵۳۵ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Unico S2100 ساخت کشور آمریکا تعیین گردید. غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از ۱، ۱، ۳ و ۳ تترا اتوکسی پروپان به عنوان استاندارد تعیین شده و غلظت مالون دی‌آلدئید بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. محلول استاندارد MDA در غلظت‌های ۲۰-۰/۲ میکرومولار در اسید سولفوریک ۱۰ درصد تهیه شد (۳۷).

در این روش با استفاده از دستورالعمل کیت تجاری مخصوص ساخت شرکت زلیبو، کشور آلمان (ZB-SOD-96A)، به حجم مناسبی از بافت همورنه EDTA ۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی‌مولار و نیتروبلوتترانزولوم ۱/۵ میلی‌مولار در یک کروت اضافه و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ریوفلاوین ۰/۰۱۲ میلی‌مولار در بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۶۷ مولار با $pH=7/8$ اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت. جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد و فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (۳۵).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ایبی استفاده شد. با استفاده از کیت تجاری مخصوص (ZB-CAT-96A)، به حجم معینی از عصاره بافتی، اتانول مطلق (۰/۰۱ میلی‌لیتر بر میلی‌لیتر) اضافه شد و مدت ۳۰ دقیقه در یخ اینکوبه گردید. سپس تریتون

در مقایسه بین گروه‌ها، بین تأثیر تمرین و کروسین به تنهایی تفاوت معنی داری وجود نداشت، اما بین تأثیر ترکیبی آن‌ها و تأثیر هر کدام از این دو مداخله (تمرین و کروسین) به تنهایی تفاوت معنی داری وجود داشت و این دو، اثر همدیگر را تقویت کردند ($p=0/001$) (جدول ۳).

تمرین و کروسین (به ترتیب $p=0/005$ برای SOD و $p=0/001$ برای CAT) نشان داد. علاوه بر این مشخص شد هر چند بین تأثیر کروسین و تمرین تناوبی شدید به تنهایی در کاهش شاخص مالون دی آلدئید و افزایش فعالیت SOD و CAT بافت قلب تفاوت وجود دارد، اما این میزان تفاوت، معنی دار نبود. علاوه بر این مشخص شد

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار سطوح شاخص‌های پژوهش و نتایج آزمون تی مستقل بین گروه کنترل سالم و بیمار (دوکسوروبیسین)

شاخص	گروه	میانگین	انحراف معیار	مقدار تی	درجه آزادی	سطح معنی داری
مالون دی آلدئید (MDA)	کنترل سالم	۲۷/۸۶۲	۲/۳۱	۲۱/۱۵۵	۱۸	۰/۰۰۱*
	دوکسوروبیسین	۷۰/۵۹۱	۵/۲۲			
سوپراکسیددیسموتاز (SOD)	کنترل سالم	۲۱/۸۸۷	۲/۰۰	۱۸/۵۱۱	۱۸	۰/۰۰۱*
	دوکسوروبیسین	۷/۵۴۱	۰/۸۸			
کاتالاز (CAT)	کنترل سالم	۱۶/۶۶۷	۱/۱۹	۲۱/۳۰۱	۱۸	۰/۰۰۱*
	دوکسوروبیسین	۵/۹۰۵	۰/۷۷			

* $p < 0/05$ در گروه کنترل بیمار (دوکسوروبیسین) در مقایسه با گروه کنترل سالم

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار سطوح مالون دی آلدئید و میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در گروه‌های مختلف پس از ۸ هفته تمرین و دریافت کروسین (۱۰ = تعداد)

شاخص گروه‌ها	مالون دی آلدئید (MDA)	سوپراکسیددیسموتاز (SOD)	کاتالاز (CAT)
دوکسوروبیسین	۷۰/۵۹±۶/۲۰	۷/۵۴±۰/۸۸	۵/۹±۱
دوکسوروبیسین+کروسین	۴۹/۲±۴/۵	۱۲/۸۸±۱/۵	۸/۶±۰/۹۶
دوکسوروبیسین+تمرین	۴۶/۱±۴/۱۰	۱۴/۲±۱/۳۱	۹/۴±۱/۴۵
دوکسوروبیسین+کروسین+تمرین	۳۱/۷±۳/۲۰	۱۸/۲±۱/۷۰	۱۴/۸±۱/۳۰

مقادیر به صورت میانگین± انحراف معیار بیان شده اند.

جدول ۳: نتایج آزمون آنالیز واریانس دو راهه در شاخص‌های مختلف پس از ۸ هفته تمرین و دریافت کروسین

شاخص	تمرین آماره F	نتایج آزمون آنالیز واریانس دو راهه		سطح معنی داری
		کروسین آماره F	اثر متقابل آماره F	
مالون دی آلدئید (MDA)	۳۲۴/۴۴۸	۷۶/۱۸۰	۱۹/۵۳۹	۰/۰۲۵#
سوپراکسیددیسموتاز (SOD)	۶۷/۷۱۳	۲۹/۵۲۱	۲۱/۶۸۲	۰/۰۰۵#
کاتالاز (CAT)	۴۹۹/۰۶۱	۱۶۲/۷۸۲	۷۲/۴۴۹	۰/۰۰۱#

$p < 0/05$ در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل بیمار (دوکسوروبیسین)

بحث

مطالعات بیش‌شماری نشان داده که استرس اکسیداتیو به عنوان عامل پیش‌برنده در پاتوژنز برخی بیماری‌های غیر واگیر و مزمن نظیر؛ دیابت، سرطان، بیماری مزمن کلیوی، بیماری‌های قلبی عروقی و فرآیندهایی هم‌چون پیری محسوب می‌شود (۲۰۳). دوکسوروبیسین (DOX) یکی از مؤثرترین داروهای آنتراسیکلین، ضد سرطان است که دارای عوارض جانبی زیادی از جمله ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت‌های سالم می‌باشد (۶). هدف از این تحقیق بررسی تأثیر ۸ هفته HIIT با مصرف کروسین بر میزان آنزیم‌های اکسیدانی (MDA) و آنتی‌اکسیدانی بافت قلب (SOD & CAT) رت‌های نر در معرض القاء دوکسوروبیسین بود. بسیاری از مطالعات اثرات محافظتی فعالیت منظم و داروهای گیاهی را در پیش‌گیری از بیماری‌های قلبی - عروقی نشان دادند. مکانیسم سلولی تأثیرگذار این اثرات مثبت تاکنون به طور مناسبی مشخص نشده است. آسیب القا شده به بافت قلبی به وسیله رادیکال‌های آزاد ناشی از تزریق دوکسوروبیسین مشاهده شده و علاوه بر این، افزایش ROS و اختلال عملکرد آنتی‌اکسیدانی ناشی از دوکسوروبیسین در مطالعات بالینی و تجربی نشان داده شده است (۳۲).

بر اساس یافته‌های این پژوهش، القاء دوکسوروبیسین باعث افزایش معنی‌داری در میزان مالون دی‌آلدئید و کاهش معنی‌داری در میزان سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز بافت قلب رت‌های نر گردید، که این نتیجه با نتایج لین و یاین و الشربینی هم‌سو می‌باشد (۳۹ و ۳۲). عضله قلب به خصوص به علت

داشتن تراکم و حجم زیاد میتوکندری، که هم به عنوان منبع مهم تولید و هم به عنوان هدف آسیب ROS شناخته می‌شود، میزان بالای مصرف اکسیژن و میزان کمتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با سایر بافت‌ها مانند کبد، به خصوص در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از DOX آسیب‌پذیر می‌باشد (۴۰). در این راستا لین و یاین گزارش کردند که دوکسوروبیسین می‌تواند مسیرهای NF- κ B و MAPK را در قلب فعال کند و واکنش‌های اکسیداتیو (تولید گونه‌های فعال اکسیژن)، التهابی (TNF- α) و آپوپتوتیک (caspase-3) قلب را تقویت کند (۳۹). واکنش رادیکال‌های آزاد با غشای سلول‌ها منجر به تولید MDA می‌شود که امکان اندازه‌گیری غیرمستقیم استرس اکسایش را فراهم می‌کند. در واقع سلول‌های قلبی (کاردیومیوسیت‌ها) به محض در معرض قرار گرفتن دوکسوروبیسین سطوح پایینی از کاتالاز را بیان می‌کنند، گلوکاتایون پراکسیداز وابسته به سلنیوم بلافاصله غیر فعال می‌شود و خود این منجر به کاهش سوپراکسیددیسموتاز سیتوزولی می‌شود (۴۱). میزان ROS در سلول‌ها و بافت‌ها در شرایط طبیعی، به علت تعادل بین تولید و حذف آنها به وسیله سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، در یک حد معینی ثابت می‌ماند. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مشتمل است بر آنزیم‌هایی نظیر؛ سوپراکسیددیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز که ROS را پاک‌سازی می‌کنند. به دلیل تعادل تقریبی بین تولید و میزان فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، به سادگی ممکن است که این تعادل به هم ریزد و همین موضوع باعث ایجاد ROS به نفع تولید آشفستگی در بیوشیمی سلول‌ها گردد. این عدم تعادل را استرس

اکسیداتیو می‌نامند که منجر به آسیب‌های بافتی می‌شود (۴۲).

یافته دیگر پژوهش حاضر نشان داد ۸ هفته تمرین تناوبی شدید باعث کاهش معنی‌دار در غلظت MDA و افزایش معنی‌دار در غلظت SOD و CAT بافت قلب رت‌های در معرض القاء دوکسوروبیسین شد. باید توجه داشت که ورزش می‌تواند برخی از سیستم‌های مهم دفاعی قلب را بر ضد اثرات سمی ناشی از DOX به طور مثبت تعدیل کند. در حقیقت یک جلسه تمرین استقامتی می‌تواند عملکرد قلب را حفظ کرده و آن را در برابر استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی محافظت کند. در ارتباط با پاسخ آنزیم‌های ضد اکسایشی نسبت به فعالیت‌های بدنی، پژوهش‌های پیشین چنین فرضیه‌ای را مطرح کرده‌اند، که احتمالاً همراه با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، سازگاری‌هایی در میزان تولید فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی سلول‌ها رخ می‌دهد که آثار نامطلوب آن را خنثی می‌کند (۴۳). افزایش معنی‌دار در غلظت این دو آنزیم در پاسخ به ۸ هفته تمرین می‌تواند به دلیل فعال شدن اولین سد دفاعی در مقابل استرس اکسایشی ناشی از دوکسوروبیسین باشد. همچنین این نتیجه با نتایج لوو و همکاران هم‌سو می‌باشد. این محققین با بررسی رت‌هایی که تحت القاء سخته قلبی قرار گرفته بودند و به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته و با تناوب‌های شدید ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ تا ۹۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و به مدت ۴۰ دقیقه در هر جلسه تمرین تناوبی انجام دادند، کاهش معنی‌داری در غلظت مالون دی‌آلدئید و افزایش معنی‌داری در غلظت سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پروکسیداز نشان دادند (۲۴). در حمایت از نتیجه حاصل از پژوهش حاضر

مبنی بر افزایش معنی‌دار در غلظت SOD و CAT به دنبال ۸ هفته تمرین تناوبی شدید، بافقی و همکاران اثر تمرین‌های شدید تناوبی و مکمل کورکومین را بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در قلب موش‌های دیابتی، مورد بررسی قرار دادند. برنامه تمرین به مدت ۸ هفته و به صورت دویدن روی تردمیل با شدت ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی و در تناوب‌های ۳ دقیقه‌ای به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. نتایج نشان داد سطوح فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT به دنبال ۸ هفته تمرین تناوبی و مصرف کورکومین به طور معنی‌داری افزایش یافت (۲۵). در مقابل، یافته‌های این پژوهش با نتایج تحقیقات گولدفارب و همکاران و جارت و همکاران هم‌خوانی نداشت. گولدفارب و همکاران دریافتند میزان مالون دی‌آلدئید در مردان و زنان سالم بعد از فعالیت هوازی ۳۰ دقیقه‌ای با ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه افزایش می‌یابد (۱۸). جارت و همکاران با بررسی تأثیر ۲۴ جلسه تمرین هوازی، هر جلسه ۳۰ تا ۴۰ دقیقه برای مدت ۸ هفته با شدت معادل ۱۰۰ درصد MLSS به صورت فزاینده بر پارامترهای استرس اکسیداتیو زنان یائسه پرداختند و به این نتیجه رسیدند که تغییری در سطوح مالون دی‌آلدئید (MDA) و کاتالاز در پایان دوره دیده نشد، اما افزایش معنی‌داری را در سوپراکسیداتیو دیس موتاز مشاهده کردند (۴۴). علت این مغایرت در یافته‌ها را می‌توان ناشی از عوامل تأثیرگذار و مداخله‌هایی مانند؛ جنس، وضعیت سلامتی، شدت و نوع فعالیت دانست. مشخص شده فعالیت بدنی با چندین سازوکار از جمله نشت اکسیژن از زنجیره انتقال الکترونی، سوخت و ساز پروستاتانوئیدی، فعالیت گزانتین اکسیدازها و ماکروفاژها

کروسین بر استرس اکسیداتیوی ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن در مقایسه با ویتامین E در قلب‌های جدا شده موش صحرایی به یک اندازه می‌باشد، به طوری که کروسین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ویتامین E (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به یک اندازه فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز را افزایش و فعالیت مالون‌دی‌الدیید را در قلب موش‌های صحرایی کاهش دادند. علاوه بر این، بهبود قابل ملاحظه‌ای در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پس از ایسکمی در موش‌های صحرایی که ترکیبی کروسین و ویتامین E دریافت کردند مشاهده شد (۴۷). همچنین نتایج این پژوهش به وسیله نتایج مطالعات آلتینوز و گویال حمایت شد (۳۴ و ۳۲).

مهم‌ترین هدف پژوهش حاضر، بررسی اثرات احتمالی تمرین تناوبی شدید در ترکیب با کروسین بر سطوح شاخص اکسیدانی مالون‌دی‌آلدئید و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز بود. در این زمینه یافته‌ها نشان داد که ترکیب تناوبی شدید و کروسین منجر به کاهش سطوح آنزیم‌اکسایشی مالون‌دی‌آلدئید و افزایش سطوح آنزیم‌های ضد اکسایشی سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز می‌شود. همچنین نتایج نشان داد تمرین تناوبی شدید و کروسین به خوبی اثر همدیگر رو تقویت می‌کنند به طوری که بین تأثیر ترکیبی این دو مداخله و تأثیر هر کدام از آن‌ها به تنهایی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. این یافته، نشان دهنده این است که استفاده از مکمل کروسین در کنار تمرین‌های تناوبی شدید، نسبت به انجام تمرین‌های تناوبی و مصرف کروسین به تنهایی، اثرات بهتر و بیشتری بر پیشگیری و کاهش عوارض ناشی از درمان به وسیله دوکسوروبیسین دارد. بر اساس داده‌های

و افزایش فعالیت کاتکولامین‌ها ممکن است بر فرآیندهای بروز فشار اکسایشی تأثیر بگذارد (۴۵).

یافته دیگر پژوهش حاضر نشان داد ۸ هفته مصرف کروسین باعث کاهش معنی‌دار در غلظت MDA و افزایش معنی‌دار در غلظت SOD و CAT بافت قلب رت‌های در معرض القاء دوکسوروبیسین شد. هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر، الشربینی و همکاران نشان دادند سه هفته مصرف کروسین (دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) باعث کاهش استرس اکسیداتیو، افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش آپوپتوزیس بافت قلبی ناشی از تزریق دوکسوروبیسین می‌شود. علاوه بر این مشخص شد میزان این اثرات کروسین وابسته به دوز مصرفی می‌باشد، به طوری که دوز بالاتر اثرات بیشتری داشت. همچنین در مطالعه‌ای که به بررسی اثر محافظتی کروسین بر عملکرد کلیه موش‌های صحرایی دیابتی پرداخت، مشخص شد مصرف وابسته به دوز کروسین می‌تواند موجب کاهش سطح سرمی مالون‌دی‌آلدئید در موش‌های صحرایی دیابتی شود. همچنین گزارش شد کروسین از طریق مهار استرس اکسیداتیو و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در کاهش آسیب کلیوی ناشی از نفروپاتی دیابتی مؤثر است (۳۳). همچنین در پژوهش رضوی و همکاران، مشخص شد کروسین اثر محافظتی بر روی سمیت قلبی ناشی از در معرض قرار گرفتن مزمن دیازینون در موش صحرایی دارد. مشخص شد کروسین این اثر را با کاهش MDA و کراتین کیناز، افزایش محتوای گلوتاتیون پروکسیداز و کاهش نسبت Bax/Bcl2، فعال‌سازی کاسپاز ۳ و انتشار سیتوکروم C به سیتوزول ناشی از دیازینون عملی می‌کند (۴۶). همچنین مشخص شد اثرات محافظتی

برخی از شاخص‌های سیستم دفاع ضداکسایشی (SOD) و CAT) را افزایش می‌دهد. علاوه بر این اثر بر هم‌کنش ترکیب تمرین و کروسین بیشتر از دو روش دیگر توانست این تغییرات را ایجاد کند.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر بخشی از رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی است که در گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی به تصویب رسیده است. نویسندگان از تمامی کارکنان گروه علوم تشریح دانشگاه جندی شاپور اهواز و نیز گروه فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز که در انجام این مطالعه زحمت فراوانی را تقبل فرمودند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

کنونی، هر چند تاکنون پژوهشی مشابه که اثرات این نوع تمرین در کنار مکمل‌گیری کروسین را در مقابل اثرات منفی دوکسوروبیسین بر بافت قلب بررسی کرده باشد، جهت مقایسه با نتایج پژوهش کنونی یافت نشد، اما قربانزاده و همکاران، نشان دادند ترکیب کروسین و فعالیت بدنی در برابر استرس اکسیداتیو در قلب رت‌های دیابتی شده (نوع ۲) با رژیم غذایی پرچرب اثر محافظتی دارد و سطوح MDA کاهش و فعالیت آنزیم‌های SOD، GPx و CAT در گروه کروسین و تمرین در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده، افزایش یافته است. علاوه بر این، ترکیبی از ورزش و کروسین اثر خود را بر سطح آنتی‌اکسیدانی بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ نسبت به تأثیر هر کدام از آنها به تنهایی افزایش داد (۴۸). بر اساس نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌گردد یک دستورالعمل اجرایی جهت توسعه انجام تمرین‌های تناوبی شدید و طبق اصول اساسی تمرین از جمله اصل اضافه بار تدریجی برای بیماران قلبی و نیز بیماران دریافت کننده داروهای شیمی درمانی (در طول درمان) به منظور جلوگیری یا کاهش عوارض تأخیری به خصوص نارسایی قلبی که از عوارض تأیید شده داروهای شیمی درمانی به خصوص دوکسوروبیسین می‌باشد، تدوین گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اجرای ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف کروسین و نیز ترکیبی از این دو مداخله مقادیر افزایش یافته شاخص اکسایشی (MDA) ناشی از القاء دوکسوروبیسین بافت قلب رت را کاهش و سطوح

REFERENCES:

- 1.Zarrinkoub R, Wettermark B, Wändell P, Mejhert M, Szulkin R, Ljunggren G, et al. The epidemiology of heart failure, based on data for 2.1 million inhabitants in Sweden. *Eur J Heart Fail* 2013; 15(9): 995-1002.
- 2.Strzyzewski KW, Piorunska-Stolzmann M, Majewski W, Kasprzak M, Strzyzewski W. Effect of surgical treatment on lipid peroxidation parameters and antioxidant status in the serum of patients with peripheral arterial disease. *Dis Markers* 2013; 35: 647-52.
- 3.Yemisci B, Yigit U, Agacha A. Variability of serum oxidative stress biomarkers relative to biochemical data and clinical parameters of glaucoma patients. *Mol Vis* 2010; 16: 1260-71.
- 4.Dayem AA, Choi HY, Kim JH, Cho SG. Role of oxidative stress in stem, cancer, and cancer stem cells. *Cancers(Basel)* 2010; 2(2): 859-84.
- 5.Sosa V, Moliné T, Somoza R, Paciucci R, Kondoh H, LLeonart ME. Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing Res Rev* 2013; 12(1):376 - 90.
- 6.Hortobagyi GN. Anthracyclines in the treatment of cancer. An overview. *Drugs* 1997; 54: 1-7.
- 7.Lin MC, Yin MC. Preventive effects of ellagic acid against doxorubicin-induced cardio-toxicity in mice. *Cardiovasc Toxicol* 2013; 13(3): 185-93.
- 8.Valdes Olmos RA, Ten Bokkel Huinink WW, Ten Hoeve RF, Van Tinteren H, Bruning PF, Van Vlies B. Assessment of anthracycline-related myocardial adrenergic derangement by [123I] metaiodobenzylguanidine scintigraphy. *Eur J Cancer* 1995; 31: 26-31.
- 9.Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S, Yokota T. Oxidative stress in cardiac and skeletal muscle dysfunction associated with diabetes mellitus. *J Clin Bioche Nutr* 2011; 48(1): 68-71.
- 10.Das J, Ghosh J, Manna P, Sil PC. Aurine suppresses doxorubicin-triggered oxidative stress and cardiac apoptosis in rat via up-regulation of PI3-K/Akt and inhibition of p53, p38-JNK. *Biochem Pharmacol* 2011; 81(7): 891-909.
- 11.Pinho RA, Araújo MC, Ghisi GL, Benetti M. Coronary heart disease, physical exercise and oxidative stress. *Arq Bras Cardiol* 2010; 94(4): 549-55.
- 12.Powers SK, Quindry JC, Kavazis AN. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemiareperfusion injury. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 193-201.
- 13.Naderi R, Gisou M, Mohammadi M, Ghaznavi R, Ghyasi R, Vatankhah A. Voluntary Exercise Protects Heart from Oxidative Stress in Diabetic Rats. *Adv Pharm Bull* 2015; 5(2): 231-6.
- 14.Liu Q, Wang S, Cai L. Diabetic cardiomyopathy and its mechanisms: Role of oxidative stress and damage. *J Diabetes Invest* 2014; 5(6): 623-34.
- 15.Maia TN, Araujo GB, Teixeira JA, Junior A, de Drummond E, Dias KP. Cardiotoxicity of doxorubicin treatment and physical activity: a systematic review. *Int J Cardiovasc Sci* 2017; 30(1): 70-80.
- 16.Gibala MJ, McGee SL. Metabolic Adaptations to Short-term High-Intensity Interval Training: A Little Pain for a Lot of Gain? *Exerc Sports Sci Rev* 2008; 36: 58- 63.
- 17.Hakkakdokht E, Salami F, Rajabi H, Hedayati M. The effect of aerobic exercise and vitamin E and C supplementation on GSH and antioxidative enzymes (GPX and SOD) in pregnant rats. *Olympic J* 2011; 19(3): 47-56.
- 18.Goldfarb A, McKenzie M, Bloomer R. Gender comparisons of exercise-induced oxidative stress: influence of antioxidant supplementation. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007; 32: 1124-31.
- 19.Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol* 2012; 590: 1077-84.
- 20.Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MQ, Al- Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 723-32.
- 21.Freyssin C, Verkindt C, Prieur F, Benaich P, Maunier S, Blanc P. Cardiac rehabilitation in chronic heart failure: effect of an 8-week, high-intensity interval training versus continuous training. *Arch Phys Med Rehabil* 2012; 93: 1359-64.
- 22.Kimm SY, Glynn NW, McMahon RP, Voorhees CC, Striegel-Moore RH, Daniels SR. Self-perceived barriers to activity participation among sedentary adolescent girls. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38, 534-540.
- 23.Trost SG, Owen N, Bauman AE, Sallis JF, Brown W. Correlates of adults' participation in physical activity: review and update. *Med Sci Sports Exerc* 2002; 34: 1996-2001.
- 24.Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Mol Med Rep* 2015; 12(2): 2374-82.

25. Bafghi AF, Homaei H M, Azarbayjani MA. Effects of high intensity interval training and curcumin supplement on antioxidant enzyme in heart tissue of diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes & Obesity (IJDO)* 2017; 8(3): 135-141.
26. Mokni M, Hamlaoui S, Kadri S, Limam F, Amri M, Marzouki L, et al. Efficacy of grape seed and skin extract against doxorubicin-induced oxidative stress in rat liver. *Pak J Pharm Sci* 2015; 28(6): 1971-8.
27. Kopalli SR, Won YJ, Hwang SY, Cha KM, Kim SY, Han CK, et al. Korean red ginseng protects against doxorubicin-induced testicular damage: An experimental study in rats. *J Funct Foods* 2016; 20: 96-107.
28. Razavi BM, Hosseinzadeh H, Movassaghi AR, Imenshahidi M, Abnous K. Protective effect of crocin on diazinon induced cardiotoxicity in rats in subchronic exposure. *Chem Biol Interact* 2013; 203(3): 547-55.
29. Qi Y, Chen L, Zhang L, Liu WB, Chen XY, and Yang XG. Crocin prevents retinal ischaemia/reperfusion injury-induced apoptosis in retinal ganglion cells through the PI3K/AKT signalling pathway. *Exp Eye Res* 2013; 107: 44-51.
30. Bathaie SZ, Mousavi SZ. New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; 50(8): 761-86.
31. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR, Ziaee T, Danaee A. Protective effect of aqueous saffron extract (*Crocus sativus* L.) and crocin, its active constituent, on renal ischemia-reperfusion-induced oxidative damage in rats. *J Pharm Pharm Sci* 2005; 8: 387-93.
32. Goyal SN, Arora S, Sharma AK, Joshi S, Ray R, Bhatia J. Preventive effect of crocin of *Crocus sativus* on hemodynamic, biochemical, histopathological and ultrastructural alterations in isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats. *Phytomedicine* 2010; 17(3-4): 227-32.
33. Elsherbiny NM, Salama MF, Said E, El-Sherbiny M, Al-Gayyar MM. Crocin protects against doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats through down-regulation of inflammatory and apoptic pathways. *Chem Biol Interact* 2016; 247: 39-48.
34. Altinoz E, Oner Z, Elbe H, Cigremis Y, Turkoz Y. Protective effects of saffron (its active constituent, crocin) on nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Hum Exp Toxicol* 2015; 34(2): 127-34.
35. Rezaei R, Nurshahi M, Bigdeli MR, Khodagoli F, Haghparast A. Effect of eight weeks of continuous and periodic aerobic training on VEGF-A and VEGFR-2 levels of male brain Wistar rats. *J Sports Physiol Phys Activ* 2015; 16: 1213-221.
36. Marques AI, Santos AS, Mariani D, Rizo-Roca D, Padrão A, Rocha-Rodrigues S, et al. Physical exercise prior and during treatment reduces sub-chronic doxorubicin-induced mitochondrial toxicity and oxidative stress. *Mitochondrion* 2015; 20: 22-33.
37. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 1978; 90: 37-43.
38. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-6.
39. Lin MC, Yin MC. Preventive effects of ellagic acid against doxorubicin-induced cardio-toxicity in mice. *Cardiovasc Toxicol* 2013; 13(3): 185-93.
40. Shakir DK, KIR T. Chemotherapy induced cardiomyopathy pathogenesis monitoring and management. *J Clin Med Res* 2009; 1: 8-12.
41. Carvalho FS, Burgeiro A, Garcia R, Moreno AJ, Carvalho RA, Oliveira PJ. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: from bioenergetic failure and cell death to cardiomyopathy. *Med Res Rev* 2014; 34(1): 106-35.
42. Kafashi Elahi R, Mohajeri D. Experimental study of the protective effects of Crocin on nephropathy due to complete ureteral obstruction in rats. *Comparative Pathobiology Scientific Research* 2014; 12(4): 1769-1782.
43. Zolfagharzadeh F, Roshan VD, Hajizadeh Moghaddam A. Pretreatment effect of three and six weeks aerobic exercise on acute doxorubicin-induced hepatic stress. *Modern Olympic* 2015: 117-28.
44. Jarrete A. Influence of aerobic exercise training on cardiovascular and endocrine-inflammatory biomarkers in hypertensive postmenopausal women. *J Clin Transl Endocrinol* 2014; 1(3): 108-14.
45. Close G, Ashton T, Cable T, Doran D, MacLaren D. Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91: 615-21.
46. Razavi BM, Hosseinzadeh H, Movassaghi AR, Imenshahidi M, Abnous K. Protective effect of crocin on diazinon induced cardiotoxicity in rats in subchronic exposure. *Chem Biol Interact* 2013; 203(3): 547-55.

47. Dianat M, Esmailizadeh M, Badavi M, Samarbaf-Zadeh AR, Naghizadeh B. Protective effects of crocin on ischemia-reperfusion induced oxidative stress in comparison with vitamin e in isolated rat hearts. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2014; 9(2): e17187.

48. Ghorbanzadeh V, Mohammadi M, Mohaddes G, Dariushnejad H, Chodari L, Mohammadi S. Protective effect of crocin and voluntary exercise against oxidative stress in the heart of high-fat diet-induced type 2 diabetic rats. *Physiol Inter* 2016; 103(4): 459–68.

The Effect of Severe Periodic Training and Crocin on Oxidative Stress in Male Rats Subjected to Doxorubicin Induction

Khanmohammadi R¹, Azarbaijani MA^{1*}, Piri M¹, Khorsandi L²

¹Department of Physiolyis, Central Tehran University, Islamic Azad University, Tehran, Iran, ²Department of Anatomical Sciences, Ahwaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Received: 6 May 2018 Accepted: 23 Oct 2018

Abstract:

Background & aim: Cardiovascular disease is one of the principal causes of mortality in the world. Oxidative stress plays a major role in the development of cardiovascular diseases. Physical activity improves the antioxidant status of the heart tissue. The aim of the present study was to investigate the levels of oxidative and antioxidant indices of the heart tissue of exposed male rats exposed to doxorubicin after eight weeks of severe routine training and consumption of crocin.

Methods: In the present experimental study, 50 male Wistar rats with a mean age of 8 weeks and an average weight of 200-220 g were randomly assigned to 5 healthy control groups (saline), doxorubicin (control), doxorubicin crocin, doxorubicin training, and doxorubicin crocin training. The training groups completed the course with two severe periods in the first week and completed 8 severe periods in the last weeks. After 8 weeks, malondialdehyde levels (MDA) and superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzymes activity were measured in cardiac tissue. Data were analyzed by independent t-test, two way ANOVA.

Results: Data analysis indicated a significant increase in malondialdehyde level and a significant decrease in the activity of superoxide dismutase and heart catalase in Doxorubicin group compared to healthy control group ($p=0.001$). Moreover, the results revealed a significant decrease ($P=0.001$), crocin ($p=0.001$), and the combination of exercise and crocin ($p=0.025$), and a significant increase in the activity of superoxide dismutase and catalase. In the result it was found that exercise ($p=0.001$), crocin ($p=0.001$), and exercise combinations ($p=0.005$) showed that in the comparison between the groups, the effect of exercise and crocin alone success. There was no significant difference, but there was a significant difference between their combined effect and the effect of each of these two interventions (exercise and crocin) alone, and these two effects amplified each other ($p=0.001$).

Conclusion: It seems that regular high intensity interval training, supplementation of crocin, or a combination of these two, could be achieved by decreasing levels of oxidative index, malondialdehyde and increased activity of antioxidant enzymes of superoxide dismutase and catalase of heart tissue, protective effects against oxidative damage of doxorubicin have. It appeared that combining these two interventions may have a better preventive and therapeutic strategy than their one-way use.

Keywords: Severe periodic exercise, Crocin, Doxorubicin, Oxidative stress

Corresponding author: Azarbaijani MA, Department of Physiolyis, Central Tehran University, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Email: ali.azarbayjani@gmail.com

Please cite this article as follows:

Khanmohammadi R, Azarbaijani MA, Piri M, Khorsandi L. The Effect of Severe Periodic Training and Crocin on Oxidative Stress in Male Rats Subjected to Doxorubicin Induction. *Armaghane-danesh* 2019; 23(6): 694-708