

مسمومیت بافتی ناشی از القای دوکسوروبیسین در موش‌های صحرائی: نقش حفاظتی فعالیت منظم هوازی

جواد اشرفی^۱، ولی‌اله دبیدی‌روشن^{۲*}، فاطمه ذوالفقارزاده^۳

تاریخ دریافت 1392/11/15 تاریخ پذیرش 1393/01/23

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: دوکسوروبیسین (DOX) یک آنتراسایکلین آنتی‌بیوتیک است که به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان یک عامل ضد سرطان استفاده می‌شود. با این حال، استفاده بالینی از آن به دلیل اثرات جانبی از جمله سمیت بافت‌های غیر هدف محدود شده است. هدف پژوهش حاضر بررسی نقش پیشگیرانه ۶ هفته تمرین منظم هوازی بر مسمومیت ناشی از القای DOX در بافت‌های قلب و کبد بود. **روش‌ها:** ۳۲ سر موش صحرائی نر به‌طور تصادفی به گروه‌های: (۱) کنترل+سالین، (۲) کنترل+دوکسوروبیسین، (۳) تمرین+سالین و (۴) تمرین+دوکسوروبیسین تقسیم شدند. گروه‌های ۳ و ۴ به مدت شش هفته با سرعت ۱۵-۲۰ متر در دقیقه و مدت ۵۴-۲۵ دقیقه، پنج جلسه در هفته روی نوارگردان دویدند. گروه‌های ۲، ۴ و گروه‌های ۳، ۱ به ترتیب محلول دوکسوروبیسین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سالین (۰/۹ درصد) دریافت کردند. بافت‌برداری در ۲۴ ساعت بعد انجام شد. بعلاوه، سنجش شاخص‌های تحقیق پس از هموژنیزاسیون بافت قلب و کبد انجام شد. **یافته‌ها:** القای دوکسوروبیسین موجب افزایش معنادار مالوندی آلدئید (MDA) و نیتریک اکساید (NO) و کاهش معنادار در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در بافت‌های قلب و کبد شد، اما این تفاوت بین دو بافت معنادار نبود. هرچند شش هفته تمرین هوازی و القای دوکسوروبیسین باعث تنظیم منفی شاخص‌های اکسیداتی و تنظیم مثبت فعالیت SOD در بافت‌های قلب و کبد شد، اما فقط تغییرات SOD بین بافت‌های قلب و کبد معنادار بود. **نتیجه‌گیری:** نتایج پیشنهاد می‌کند که حفاظت قلبی و کبدی ناشی از تمرین ورزشی مزمن در موش‌های درمان شده با DOX، با مهار استرس اکسایشی و تنظیم افزایشی دفاع آنتی‌اکسیدانی مرتبط می‌باشد. **کلمات کلیدی:** سرطان، دوکسوروبیسین، تمرین هوازی، استرس اکسایشی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و پنجم، شماره چهارم، ص ۳۶۲-۳۵۳، تیر ۱۳۹۳

آدرس مکاتبه: مازندران - بابلسر - پردیس دانشگاه - دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، تلفن: ۰۹۱۱۳۱۵۱۵۰۹

Email: vdabidiroshan@yahoo.com

مقدمه

کشیدن، عدم فعالیت بدنی و رژیم غذایی غربی به‌طور چشمگیری در حال افزایش است (۱). درمان‌های رایج برای سرطان شامل جراحی، شیمی‌درمانی و پرتوافشانی است. علاوه بر اثرات جانبی شدید، درمان‌های در دسترس کنونی میزان بقای کمی داشته و نتایج بالینی برای بسیاری از سرطان‌ها را محدود نموده است (۳).

دوکسوروبیسین^۴ (DOX) یک آنتی‌بیوتیک با طیف وسیعی از عملکرد ضدتوموری و ضدسرطانی (آنتی‌نئوپلاستیک) (۹-۴) است و از اواخر دهه ۶۰ میلادی به‌طور گسترده‌ای در درمان

امروزه سرطان به‌عنوان یکی از علل اصلی مرگ در کشورهای توسعه‌یافته از لحاظ اقتصادی و دومین علت عمده مرگ در کشورهای در حال توسعه به‌شمار می‌رود (۱). این بیماری منجر به مرگ ۷/۴ میلیون نفر در سال شده و به عبارتی در حدود ۱۳ درصد از مرگ‌ومیرها را در جهان به خود اختصاص داده است (۲). متأسفانه هزینه عمومی جهانی برای درمان سرطان عمدتاً به دلیل افزایش سن و رشد جمعیت جهان در کنار افزایش رفتارهای سرطان‌زا، به‌ویژه سیگار

^۱ کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش دانشگاه مازندران

^۲ استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه مازندران (نویسنده مسئول)

^۳ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش دانشگاه مازندران

^۴ Doxorubicin

یک شاخص مهم استرس اکسایشی- نیتریک اکساید(NO)^۵ و سوپراکساید دیسموتاز(SOD)^۶ - به‌عنوان شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی- را در موش‌های صحرایی نر بررسی نماید. بعلاوه، نقش پیش‌درمان فعالیت منظم هوازی بر استرس اکسایشی ناشی از DOX در هریک از بافت‌های قلب و کبد و مقایسه بین بافتی موضوع دیگری است که در مطالعه حاضر بررسی می‌شود.

مواد و روش کار

آزمودنی‌های این تحقیق شامل ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزن 269 ± 10 گرم بودند که از مرکز انستیتو پاستور خریداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. آزمودنی‌ها پس از توزین و آشنایی با محیط جدید به‌طور تصادفی به ۴ گروه: (۱) کنترل+سالین، (۲) کنترل+دوکسوروبیسین، (۳) تمرین+سالین و (۴) تمرین+DOX تقسیم شدند و به‌صورت ۴ سر موش در هر قفس پلی کربنات شفاف و در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. در طی دوره پژوهش حیوانات از غذای ساخت شرکت بهرپور به‌صورت پلت تغذیه شدند و همچنین به آب دسترسی آزاد داشتند.

قبل از اجرای پروتکل تمرینی، آزمودنی‌ها به مدت ۱ هفته با نحوه انجام فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند. برنامه آشنایی شامل ۵ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۵ تا ۸ متر در دقیقه و شیب صفر درصد و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه بود. برنامه تمرینی شامل دویدن روی نوار گردان بدون شیب ویژه جوندگان با رعایت اصل اضافه‌بار به‌صورت پیش‌رونده بین ۵۴-۲۵ دقیقه و با سرعت بین ۲۰-۱۵ متر در دقیقه به مدت ۶ هفته و هر هفته نیز در ۵ جلسه بود. برای گرم کردن نیز آزمودنی‌ها در ابتدای هر جلسه تمرینی به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۷ متر در دقیقه دویده و سپس برای رسیدن به‌سرعت موردنظر به ازای هر دقیقه، ۲ متر در دقیقه به‌سرعت نوار گردان افزوده شد. برای سرد کردن بدن در انتهای هر جلسه تمرینی نیز سرعت نوارگردان به‌طور معکوس کاهش یافت تا اینکه به سرعت اولیه برسد.

۲۴ ساعت پس از انجام آخرین جلسه تمرینی(۱۷)، موش‌های گروه‌های (۱) کنترل+سالین و (۳) تمرین+سالین هر یک به مقدار ۱ واحد انسولینی سالین(سدیم کلراید ۰/۹ درصد) را به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدنشان و موش‌های گروه‌های (۲) کنترل+دوکسوروبیسین و (۴) تمرین+DOX. داروی ایدوکسو خریداری شده از کارخانه داروسازی EBewe Pharma کشور استرالیا که طبق

آسیب بافت‌های غیر هدف، اغلب درمان سرطان را به‌واسطه محدودیت دوزهای درمانی دوکسوروبیسین و تقلیل کیفیت زندگی بیماران در طی درمان و پس‌از آن پیچیده می‌کند. مکانیسم‌های متعددی برای عوارض جانبی سمیت قلبی و کبدی دوکسوروبیسین از جمله تولید رادیکال‌های آزاد، آسیب میتوکندریایی و سمیت سلولی گزارش شده است(۱۱،۱۲). اعتقاد بر این است تولید گونه‌های اکسیژنی فعال^۱ (ROS) (۱۶-۱۳) و تحریک مرگ سلولی (آپوپتوزیس)(۱۷،۱۸) نقش محوری را در فرایند سمیت بافت‌های مختلف از قبیل قلب و کبد ایفا می‌کنند. سلول‌ها به‌طور کلی از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد با استفاده از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی خود و تعدیل سمیت ناشی از دوکسوروبیسین از طریق سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی وابسته به گلوکوتایون محافظت می‌کنند (۱۹). در طی درمان با دوکسوروبیسین، کبد غلظت بالای از دوکسوروبیسین را دریافت و متابولیزه می‌نماید. بنابراین حفاظت از ارگان‌ها و بافت‌های سالم در طی درمان حاد و مزمن DOX به‌عنوان یکی از نگرانی‌های عمومی به شمار می‌رود(۱۹).

در طی دهه اخیر، تلاش‌های قابل‌توجهی از سوی محققان حیطه‌های پزشکی(۶،۷،۹) و ورزشی (۲۱-۱۸، ۴،۵،۸،۱۲) برای گسترش استراتژی‌هایی جهت جلوگیری از سمیت قلبی و کبدی ناشی از DOX انجام شده است. بابایی و همکاران(۷) در مطالعه‌ای اثر حفاظتی مورفین را در سمیت قلبی ناشی از DOX گزارش دادند. محققان دیگر نیز اثر حفاظتی تترادرین^۲ و آمیفوستین^۳ را در برابر آسیب قلبی و سمیت قلبی ناشی از DOX نشان دادند(۶،۹). از طرفی مطالعات دیگری نیز اثر حفاظتی تمرینات منظم استقامتی را در مقابل سمیت قلبی و کبدی ناشی از DOX تأیید نموده‌اند(۸،۱۲، ۱۹-۲۱). باوجوداین، نقش پیشگیرانه فعالیت منظم هوازی به‌عنوان یک استراتژی غیردارویی بر مسمومیت قلبی و کبدی ناشی از DOX به‌طور جدی موردتوجه محققان قرار نگرفته است. بعلاوه، با توجه به اینکه برخی محققان گزارش دادند که ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پائین تر بافت قلب نسبت به بافت‌هایی از قبیل کبد موجب گسترش روندهای اکسیدانتی و افزایش رادیکال‌های آزاد و ازاین‌رو بروز مشکلاتی در آن می‌شود(۱۲)، لذا مقایسه پاسخ شاخص‌های اکسیدانتی و آنتی‌اکسیدانی بین دو بافت قلب و کبد متعاقب اجرای تمرینات ورزشی موضوع دیگری که تاکنون موردتوجه محققان قرار نگرفته است. لذا تحقیق حاضر قصد دارد تأثیر القای DOX بر مالوندی آلدئید(MDA)^۴، - به‌عنوان

¹ Reactive oxygen species

² Tetradrine

³ Amifostine

⁴ Malone De Aldehyde

⁵ Nitric Oxide

⁶ Super Oxide Dismutase

ترتیب در بافت قلب و کبد) در سطوح مالوندی آلدئید (MDA) در مقایسه با گروه کنترل+DOX و همچنین افزایش معنادار ۸۳ درصد و ۵۲ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) در سطوح مالوندی آلدئید (MDA) در مقایسه با گروه تمرین+سالین مشاهده شد. در مقایسه تغییرات سطوح مالوندی آلدئید (MDA) بافت قلب و کبد، تنها تفاوت معناداری (کاهش ۱۷ درصدی در بافت کبد نسبت به قلب) بین گروه تمرین+DOX مشاهده شد.

همچنین، نمودار ۲ میانگین و انحراف معیار سطوح نیتریک اکساید (NO) بافت قلب و کبد را در گروه‌های مختلف پژوهش نشان می‌دهد. مطابق نمودار ۲، تزریق DOX (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در گروه کنترل موجب افزایش غیر معنادار ۱۲/۵ درصد و افزایش معنادار ۳۰ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) سطوح نیتریک اکساید (NO) در مقایسه با گروه کنترل+سالین شد. همچنین ۶ هفته تمرین هوازی منجر به افزایش معنادار ۲۱ درصد و ۲۰ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) سطوح نیتریک اکساید (NO) در مقایسه با گروه کنترل+سالین شد. از سویی پس از ۶ هفته تمرین هوازی و القای DOX، افزایش معنادار ۲۹ درصد و ۱۹ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) در سطوح نیتریک اکساید (NO) در مقایسه با گروه کنترل+سالین و همچنین افزایش معنادار ۲۰ درصد و ۲۹ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) در سطوح نیتریک اکساید (NO) در مقایسه با گروه تمرین+سالین مشاهده شد. در مقایسه تغییرات سطوح نیتریک اکساید (NO) بافت قلب و کبد، تفاوت معناداری بین گروه‌های مختلف پژوهش مشاهده نشد.

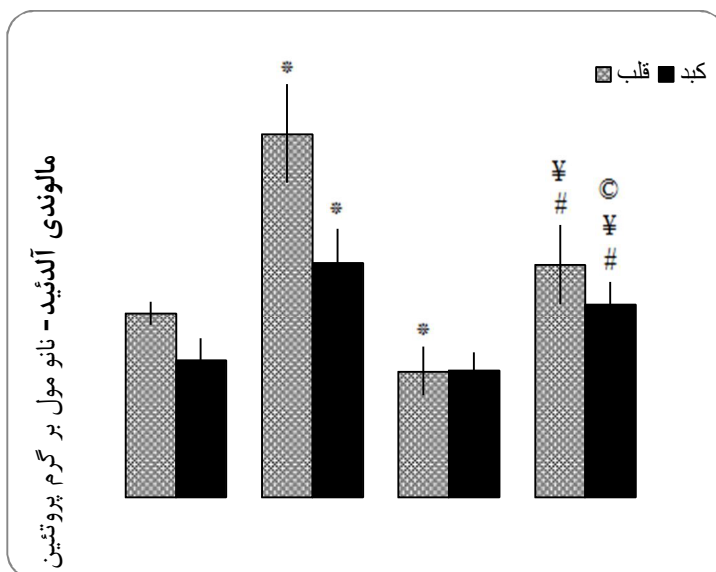
نمودار ۳ میانگین و انحراف معیار سطوح سوپراکساید دیسموتاز (SOD) بافت قلب و کبد را در گروه‌های مختلف پژوهش نشان می‌دهد. همان‌گونه که در نمودار نیز مشخص است، تزریق DOX (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در گروه کنترل موجب کاهش معنادار ۱۸ درصد و ۱۵ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) سطوح سوپراکساید دیسموتاز (SOD) در مقایسه با گروه کنترل+سالین شد. همچنین ۶ هفته تمرین هوازی منجر به افزایش معنادار ۳۶ درصد و ۱۵ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) سطوح سوپراکساید دیسموتاز (SOD) در مقایسه با گروه کنترل+سالین شد. از سویی پس از ۶ هفته تمرین هوازی و القای DOX، افزایش معنادار ۴۰ درصد و ۴۰ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) در سطوح سوپراکساید دیسموتاز (SOD) در مقایسه با گروه کنترل+سالین و همچنین کاهش معنادار ۱۶ درصد و ۹ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) در سطوح سوپراکساید دیسموتاز (SOD) در مقایسه با گروه تمرین+سالین مشاهده شد. در مقایسه تغییرات سطوح سوپراکساید دیسموتاز (SOD) بافت

دستورالعمل سازنده دارو، با محلول سدیم کلراید ۹/۰ درصد به دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رقیق شده بود را به صورت یک واحد سرنگ انسولینی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن موش به صورت زیرصفاقی دریافت نمودند. تمام گروه‌ها در شرایط استراحتی و ناشتایی (۲۴ ساعت پس از تزریق) (۱۷) با کتامین و زایلازین با نسبت ۲ به ۵ بی‌هوش و سپس بافت‌های قلب و کبد جدا و بلافاصله در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شد. برای اندازه‌گیری سطوح مالوندی آلدئید (MDA)، نیتریک اکساید (NO) و فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (SOD)، ابتدا بافت موردنظر (قلب و کبد) با استفاده از مایع نیتروژن پودر شد و سپس ۱۰۰ میلی‌گرم از پودر ساخته شده با ۱ میلی‌لیتر بافر حاوی ۱۳۷ میلی‌مول NaCl، ۲۰ میلی‌مول (Tris-HCL (pH=۸/۰، ۴۰% NP، ۱۰٪ گلیسرول، ۱ میلی‌مول PMSF، ۱ میکروگرم لپتین، ۰/۵ میلی‌مول سدیم وانادیت و ۱۰۰ میلی‌گرم AEBSF هموژنیزه و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و مایع به دست آمده برای سنجش شاخص‌های موردنظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. برای تعیین مقادیر نیتریک اکساید (NO) از روش الایزا (۱۲) و برای سنجش مقادیر مالوندی آلدئید (MDA) از روش تیوباربتویک اسید (TBARS) (۲۳) و همچنین برای تعیین فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (SOD) از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد (۲۳). از آزمون کولموگروف - اسمیرن (K-S) برای تعیین وضعیت توزیع هر یک از شاخص‌ها استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده‌ها، از روش تحلیل واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی (HSD) به منظور بررسی تفاوت هر یک از شاخص‌های موردنظر بین گروه‌های مختلف پژوهش استفاده شد. در این بررسی‌ها مقدار معناداری در سطح $(P \leq 0.05)$ در نظر گرفته شده است.

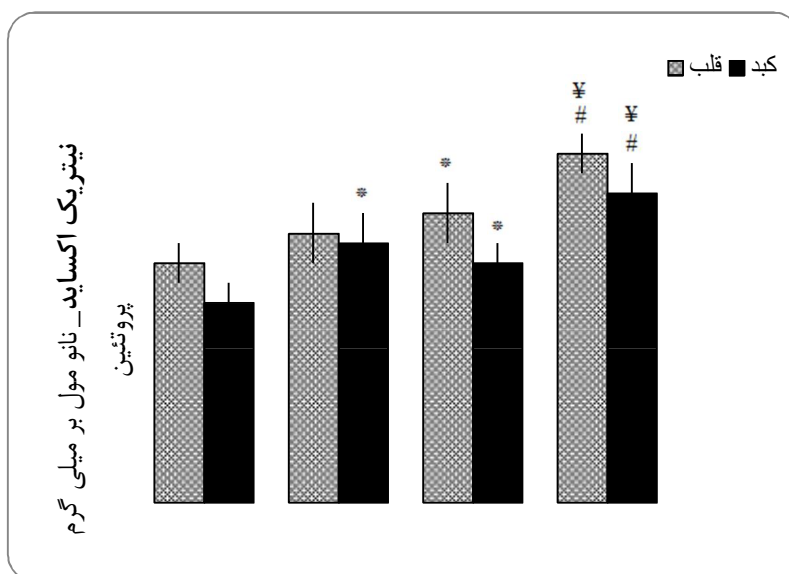
یافته‌ها

نمودار ۱ میانگین و انحراف معیار سطوح مالوندی آلدئید (MDA) بافت قلب و کبد را در گروه‌های مختلف پژوهش نشان می‌دهد. تزریق DOX (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در گروه کنترل موجب افزایش معنادار ۹۸ درصد و ۷۱ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) سطوح مالوندی آلدئید (MDA) در مقایسه با گروه کنترل+سالین شد. همچنین ۶ هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنادار ۳۱/۵ درصد و کاهش غیر معنادار ۷/۵ درصد (به ترتیب در بافت قلب و کبد) سطوح مالوندی آلدئید (MDA) در مقایسه با گروه کنترل+سالین شد. از سویی پس از ۶ هفته تمرین هوازی و القای DOX، کاهش معنادار ۳۶ درصد و ۱۸ درصد (به

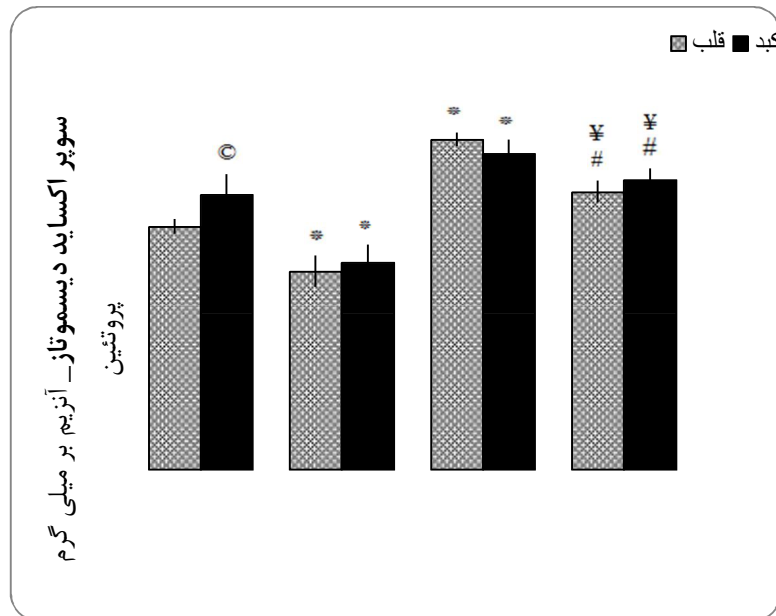
قلب و کبد، تفاوت معناداری (افزایش ۱۴ درصدی در بافت کبد نسبت به قلب) بین گروه کنترل+سالین مشاهده شد.



نمودار (۱): میانگین و انحراف معیار سطوح مالوندی آلدئید (MDA) بافت قلب و کبد. علامت*: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه کنترل+سالین در بافت مشابه. علامت#: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه کنترل+دوکسوروبیسین در بافت مشابه. علامت\$: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه تمرین+سالین در بافت مشابه. علامت©: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه مشابه در بافت قلب



نمودار (۲): میانگین و انحراف معیار سطوح نیتریک اکساید (NO) بافت قلب و کبد. علامت*: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه کنترل+سالین در بافت مشابه. علامت#: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه کنترل+دوکسوروبیسین در بافت مشابه. علامت\$: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه تمرین+سالین در بافت مشابه. علامت©: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه مشابه در بافت مشابه



نمودار (۳): میانگین و انحراف معیار سوپراکساید دیسموتاز (SOD) بافت قلب و کبد. علامت ×: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه کنترل+سالین در بافت مشابه. علامت #: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه کنترل+سالین در بافت مشابه. علامت ¥: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه تمرین+سالین در بافت مشابه. علامت ©: نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه مشابه در بافت قلب

بحث و نتیجه‌گیری

افزایش در مالوندی آلدئید (MDA) و نیتریک اکساید (NO) و کاهش در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در بافت قلب و کبد مشاهده شد. از سویی تفاوت معناداری بین تغییرات مارکرهای فوق‌الذکر در بافت قلب و کبد متعاقب القای DOX وجود نداشت. ویسوانتا و همکاران (۲۰۱۲)، اظهار داشتند که القای DOX به‌واسطه کاهش در مقادیر آنتی‌اکسیدانتهایی از قبیل SOD، CAT و GSH و افزایش در شاخص‌های اکسایشی از قبیل LDH، CPK و MDA منجر به کاردیومیوپاتی شده است و از سوی دیگر، پیش‌درمانی با کورکومین به‌طور معناداری کاهش اثرات سمیت قلبی ناشی از DOX را موجب شد (۲۴). در مطالعه‌ای دیگر، تری ودی و همکاران (۲۰۱۱) اثر حفاظت قلبی هسپرین را در مقابل سمیت قلبی ناشی از DOX به‌وسیله کاهش استرس اکسایشی (MDA)، آسیب DNA و ریخت‌شناسی بافتی و افزایش معناداری در GSH گزارش نمودند (۳۱). ویسوانتا و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که پیش‌درمانی با اسکوربیک اسید از طریق افزایش معنادار سطوح آن‌تی‌اکسیدانتهای GSH، SOD و CAT باعث حفاظت عضله قلب در برابر اثرات سمیت ناشی از DOX شد. بعلاوه، آن باعث کاهش سطوح MDA، CPK، LDH و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در مقایسه با گروه DOX شد (۲۵). سی سن و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای به بررسی اثر سیلیمارین بر سمیت ناشی از DOX در کلیه، کبد و قلب موش‌ها پرداختند. نتایج نشان داد که تزریق DOX منجر به افزایش معنادار NO در مقایسه با گروه کنترل شد و القای پیشگیرانه سیلیمارین در گروه

به دلیل اثرات بالقوه DOX، در مبارزه با طیف وسیعی از سرطان‌ها مانند سرطان پوست، تومورهای بدخیم و سرطان‌های خونی، این دارو به‌طور گسترده‌ای در شیمی‌درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. شواهد رو به رشدی وجود دارد که این دارو می‌تواند به‌عنوان یک شمشیر دو لبه عمل نماید و به بافت‌های غیر هدف آسیب برساند. همچنین بیان شده که سمیت قلبی و کبدی ناشی از درمان DOX، از مهم‌ترین عوارض جانبی دارو هست (۱۱،۱۹). سازوکارهای متعددی برای سمیت قلبی و کبدی مرتبط با DOX از جمله آسیب میوکارد ناشی از رادیکال‌های آزاد، آسیب میتوکندری، انتشار آمین‌های تنگ‌کننده عروق از قبیل کاتکولامین‌ها و سمیت سلولی پیشنهاد شده است (۲۷-۲۴). ظاهراً رادیکال‌های آزاد در تمام مکانیزم‌های پیشنهادی دخیل بوده و افزایش استرس اکسیداتیو و آزادسازی رادیکال‌های آزاد در مقابل دفاع آنتی‌اکسیدانتهای نقش عمده‌ای را در خسارت ناشی از DOX بازی می‌کند (۲۹،۲۸،۲۵). از سویی آسیب‌پذیری بافت قلب در مقابل استرس اکسایشی ممکن است توسط این واقعیت قابل توجه باشد که قلب دارای سطوح نسبتاً پایین‌تر از فعالیت آن‌تی‌اکسیدانتهای از قبیل سوپراکساید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) و کاتالاز (CAT) در مقابل رادیکال‌های آزاد و استرس اکسایشی ناشی از آن در مقایسه با سایر بافت‌ها از جمله کبد و کلیه می‌باشد (۱۲،۳۰).

در مطالعه حاضر القای DOX با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب سمیت قلبی و کبدی در موش‌های صحرایی نر شد که توسط

کاهش سمیت ناشی از DOX نشان می‌دهد (۱۱). در کبد، استرس اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله افزایش تولید ROS می‌تواند از دو روش مختلف اتفاق بی‌افتد، شایع‌ترین راه زمانی که شبه کینون ناشی از DOX با مولکول اکسیژن (O_2) واکنش داده و تولید سوپر اکساید (O_2^-) و هیدروژن پراکساید (H_2O_2) می‌نماید و راه فرعی دیگر که از طریق ADPH هیدروکسیداز^۳ (فرآورده اصلی خارجی میتوکندریایی ناشی از تولید ROS در سلول‌های کبدی) رخ می‌دهد، NADPH اکسیداز^۴ به مقدار کمی وجود داشته، اما سطوح آن در پاسخ به محرک‌های خارجی از جمله درمان با DOX افزایش می‌یابد.

همچنین دیگر یافته اصلی مطالعه حاضر حاکی از نقش پیشگیرانه تمرینات هوازی منظم بر روی تردمیل در جهت کاهش اثرات سمیت قلبی و کبدی ناشی از تزریق DOX در سطوح نشانگرهای زیستی ذکر شده بود. به عبارتی، کاهش معنادار در سطوح مالوندی آلدئید (MDA) و افزایش معنادار در سطوح نیتریک اکساید (NO) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در موش‌های گروه تمرین + DOX در بافت قلب و کبد، از نقش پیشگیرانه و حمایتی تمرینات منظم هوازی در مقایسه با گروه کنترل + DOX حاکی است. همچنین تنها تفاوت معناداری بین تغییرات سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در بافت قلب و کبد متعاقب شش هفته تمرین هوازی و القای DOX وجود داشت. این نتایج با یافته‌های کاوازیس و همکاران، ویسوانتا و همکاران، آسنساو و همکاران، هنینگر و همکاران، این جاک و همکاران راسکوویک و همکاران، محمود و همکاران که گزارش‌هایی مبنی بر افزایش سمیت قلبی و کبدی ناشی از DOX و نقش حمایتی تمرینات استقامتی در جهت کاهش این عوارض بیان نموده‌اند، همسو است (۳۶-۳۲، ۲۴، ۱۸).

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های کلی حاصل از تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد که سمیت قلبی و کبدی ناشی از DOX ممکن است با عدم تعادل اکسیدانتی/آنتی‌اکسیدانتی در قلب و کبد مرتبط باشد. مقادیر شاخص‌های مرتبط با آسیب قلب در مقایسه با کبد متعاقب القای DOX افزایش چشمگیرتری داشته است. در مقابل، به‌کارگیری استراتژی‌های غیردارویی از قبیل تمرینات منظم هوازی قبل از القای داروی DOX می‌تواند از طریق افزایش شاخص‌های حفاظت قلبی و کاهش استرس اکسایشی از سمیت قلبی و کبدی ناشی از دارو بکاهد و به‌عنوان یک رویکرد پیشگیرانه قبل از درمان DOX مورد استفاده قرار گیرد.

ترکیبی موجب کاهش NO شد (۳۰). ذوالفقارزاده و دبیدی روشن (۲۰۱۳) گزارش نمودند که اجرای تمرینات منظم هوازی در قبل از تزریق DOX، عدم تعادل اکسیدانتی/آنتی‌اکسیدانتی ناشی سمیت دارو را در بافت کبد معکوس نموده و پیشنهاد دادند که تمرین منظم هوازی می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد درمانی در جهت کاهش سمیت کبدی ناشی از DOX مورد استفاده قرار گیرد (۱۹). با توجه به نتایج مطالعات مذکور که همگی افزایش در MDA، NO و همچنین کاهش فعالیت SOD را در پی القای DOX گزارش نمودند و نتایج افزایش MDA، NO و همچنین کاهش فعالیت SOD متعاقب القای DOX در پژوهش حاضر، نتایج ما با مطالعات این محققان همسو می‌باشد.

اطلاعات موجود نشان می‌دهد که DOX از طریق اختلال کارکردهای مهم میتوکندری آسیب‌های بافتی ایجاد می‌کند. این خاصیت DOX درخور توجه بوده و شباهت بالای آن به کاردیولیپین^۱ (یک فسفو لیپید ویژه در لایه داخلی میتوکندری) وابسته است. شباهت DOX با کاردیولیپین، اتصال کراتین کیناز را به غشای درونی میتوکندری مسدود می‌کند و فعالیت آنزیم‌های حیاتی میتوکندری وابسته به کاردیولیپین را کاهش می‌دهد. پیشنهاد شده است که تجمع DOX در میتوکندری منجر به یک چرخه اکسیداسیون در کمپلکس I زنجیره تنفسی میتوکندری شده که در آن الکترون‌های تنها به DOX انتقال می‌یابد. DOX (DOX) به درون میتوکندری وارد شده و با کمپلکس I میتوکندری واکنش نشان می‌دهد تا میانجی رادیکال شبه کینون را تشکیل دهد (۱۱). شبه کینون تشکیل شده از DOX، یک متابولیت سمی کوتاه‌مدت است که به‌نوبه خود می‌تواند با مولکول اکسیژن واکنش نشان دهد و گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS) تولید نماید. ROS شامل همه مولکول‌های بسیار فعال واجد اکسیژن از جمله رادیکال‌های آزاد است و شامل رادیکال هیدروکسیل، رادیکال آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، اکسیژن واحد، رادیکال NO، رادیکال هیپوکلیت و لیپید پراکسیدهای مختلف است (۱۱). ROS می‌تواند با مولکول‌های زیستی میتوکندری مجاور، شامل چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش دهند. DOX با DNA میتوکندری (mtDNA) نیز واکنش نشان می‌دهد که با عملکرد طبیعی میتوکندری، بیان پروتئین‌ها و اکسیداسیون چربی مداخله می‌نماید (۱۱). در طی درمان با DOX، غلظت بالایی از دارو در کبد تجمع یافته و متابولیزه شده که از این رو کبد به‌عنوان یکی از اندام‌های آسیب‌پذیر در معرض درمان با DOX است. تقریباً ۴۰ درصد از بیماران از آسیب کبدی پس از درمان با DOX رنج می‌برند. مکانیسم اصلی کاهش DOX در کبد توسط CPR کاتالیز شده است. دیگر مطالعات همچنین نقش مهمی را برای کربونیل ردوکتاز نوع ۱ (CBR1) در

^۳ADPH oxidases

^۴NADPH-oxidases

^۱Cardiolipin

^۲ Carbonyl reductase 1

References:

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61(2):69-90.
- Barbaric M, Brooks E, Moore L, Cheifetz O. Effects of physical activity on cancer survival: a systematic review. *Physiother Can* 2010; 62:25-34.
- Li M, Xiongzh G. Ion channels as targets for cancer therapy. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2011; 3(2):156-166.
- Chicco AJ, Schneider CM, Hayward R. Voluntary exercise protects against acute doxorubicin cardiotoxicity in the isolated perfused rat heart. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 289: R424-R431.
- Chicco AJ, Schneider CM, Hayward R. Exercise training attenuates acute doxorubicin-induced cardiac dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47(2):182-9.
- Dragojevic-Simic VM, Dobric SL, Bokonjic DR, Vucinic ZM, Sinovec SM, Jacevic VM, et al. Amifostine protection against doxorubicin cardiotoxicity in rats. *Anticancer Drugs* 2004; 15(2):169-78.
- Babaei Kelishomi R, Ejtemaemehr Sh, Tavangar SM, Rahimian R, IzadiMobarakeh J, Dehpour AR. Morphine is protective against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rat. *Toxicology* 2008; 243: 96-104.
- Wonders KY, Hydock DS, Schneider CM, Hayward R. Acute exercise protects against doxorubicin cardiotoxicity. *Integr Cancer Ther* 2008; 7(3):147-54.
- Xu M, Sheng L, Zhu X, Zeng S, Chi D, Zhang GJ. Protective effect of tetrandrine on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Tumori* 2010; 96(3):460-4.
- Ludke AR, Al-Shudiefat AA, Dhingra S, Jassal DS, Singal PK. A concise description of cardioprotective strategies in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Can J Physiol Pharmacol* 2009; 87: 756-63.
- Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, Correia S, Oliveira PJ, Santos MS, et al. Doxorubicin: The Good, the Bad and the Ugly Effect. *Curr Med Chem* 2009;16(25):3267-85.
- Ashrafi J, Dabidi Roshan V, Mahjoub S. Cardioprotective effects of aerobic regular exercise against doxorubicin-induced oxidative stress in rat. *African J Pharm Pharmacol* 2012; 6(31): 2380-8.
- Chicco AJ, Hydock DS, Schneider CM, Hayward R. Low-intensity exercise training during doxorubicin treatment protects against cardiotoxicity. *J Appl Physiol* 2005; 100: 519-27.
- Ascensao A, Magalhaes J, Soares J, Ferreira R, Neuparth M, Marques F, et al. Endurance training attenuates doxorubicin-induced cardiac oxidative damage in mice. *Int J Cardiol* 2005; 100: 451-60.
- Dziegiel P, Surowiak P, Zabel M. Correlation of histopathological and biochemical appraisal of anthracyclin-induced myocardium damage. *Folia Histochem Cytobiol* 2002; 40: 127-8.
- Yen HC, OberleyTD, Vichitbandha S, Ho YS, Clair DK. The protective role of manganese superoxide dismutase against adriamycin-induced acute cardiac toxicity in transgenic mice. *J Clin Invest* 1996; 98: 1253-60.
- Ascensao A, Magalhaes J, Soares JM, Ferreira R, Neuparth MJ, Marques F, et al. Moderate endurance training prevents doxorubicin-induced in vivo mitochondriopathy and reduces the development of cardiac apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289: H722-H73.
- Kavazis AN, Smuder AJ, Min K, Tümer N, Powers SK. Short-term exercise training protects against doxorubicin-induced cardiac mitochondrial damage independent of HSP72. *Am*

- J Physiol Heart CircPhysiol 2010; 299(5):H1515-24.
19. 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.
 20. 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: 4025-30.
 21. Shirinbayan V, Dabidi Roshan V. Pretreatment Effect of Running Exercise on HSP70 and DOX-Induced Cardiotoxicity. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2012; 13 (11): 5849-585.
 22. Kalender Y, Yel M, Kalender S. Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats. The effects of vitamin E and catechin. *Toxicology* 2005; 209: 39-45.
 23. 1. Dabidi Roshan V, Ranjbar S, Hosseinzadeh M, Myers J. Left ventricular oxidant and antioxidant markers induced by lifestyle modification in rats exposed to lead acetate. *Eur J Sport Sci* 2012;12(6):485-90.
 24. Viswanatha SA, Gulliaya S, Thippeswamy A, Basavaraj CK, Donnahalli VM. Cardioprotective effect of curcumin against doxorubicin-induced myocardial toxicity in albino rats. *Indian J Pharmacol* 2012; 44(1): 73-7.
 25. ViswanathaSwamy AHM, Wangikar UBC, Koti AHM, Thippeswamy PMR, Manjula DV. Cardioprotective effect of ascorbic acid on doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats. *Indian J Pharmacol* 2011; 43(5): 507-11.
 26. Evert DB, Bottone AE, Voest EE. Doxorubicin and mechanical performance of cardiac trabeculae after acute and chronic treatment: a review. *Eur J Pharmacol* 2001; 415Ž:1-11.
 27. Chatterjee K, Zhang J, Honbo N, Karliner JS. Doxorubicin cardiomyopathy. *Cardiology* 2010;115(2):155-62.
 28. Osman A-MM, Nemnem MM, Abou-Bakr AA, Nassier OA, Khayyal MT. Effect of methimazole treatment on doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol* 2009;47(10):2425-30.
 29. Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis EK, Papaefthimiou M, Sigalas C, Aliogiannis N, et al. Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. *J Mol Cell Cardiol* 2007;42(3):549-58.
 30. Cecen E, Dost T, Culhaci N, Karul A, Ergur B, Birincioglu M. Protective effects of silymarin against doxorubicin-induced toxicity. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011;12(10):2697-704.
 31. Trivedi PP, Kushwaha S, Tripathi DN, Jena GB. Cardioprotective effects of hesperetin against doxorubicin-induced oxidative stress and DNA damage in rat. *Cardiovasc Toxicol* 2011;11(3):215-25.
 32. 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.
 33. 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.
 34. Injac R, Perse M, Obermajer N, Djordjevic-Milic V, Prijatelj M, Djordjevic A, et al. Potential hepatoprotective effects of fullereneol C60(OH)24 in doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats with mammary carcinomas. *Biomaterials* 2008;29(24-25):3451-60.
 35. Rašković A, Stilinović N, Kolarović J, Vasović V, Vukmirović S, Mikov M. The protective effects of

- silymarin against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Molecules* 2011;16(10):8601–13.
36. Mahmud Z, Bachar S, Qais N. Antioxidant and Hepatoprotective Activities of Ethanolic Extracts of Leaves of *Premna esculenta* Roxb. Against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Damage in Rats. *J Young Pharm* 2012; 4(4):228-34.

TISSUE TOXICITY INDUCED BY DOXORUBICIN IN RATS: PROTECTIVE ROLE OF AEROBIC REGULAR EXERCISE

Javad Ashrafi¹, Valiollah Dabidi Roshan^{2*}, Fatemeh Zolfagharzadeh³

Received: 5 Feb, 2014; Accepted: 12 Apr, 2014

Abstract

Background & Aims: Doxorubicin (DOX) is an anthracycline antibiotic that is widely used as an anticancer agent. However, the clinical use of DOX is limited due to its toxic side effects upon non-target tissues. The aim of this study was to investigate the impact of 6 weeks of aerobic training on dox-induced toxicity in rat tissues (heart and liver).

Materials & Methods: This study was conducted on thirty-two Wistar male rats randomly assigned to 1. control+salin, 2. control+DOX, 3. training+salin, 4) training+DOX groups. Groups 3 and 4 were trained on treadmill between 25 to 54 min/day and 15 to 20 m/min, 5 days/week for 6 weeks. The groups 2, 4 and groups 1, 3 received DOX (20 mg.kg⁻¹ i.p) and saline (0.9% NaCl i.p), respectively. Animals were sacrificed 24 h after DOX and saline injections. Also, heart and liver tissue homogenization and assay parameters were performed.

Results: Doxorubicin administration cause a significant increase in malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO) and a significant decrease in the superoxide dismutase (SOD) activity in heart and liver tissues; however, the difference was not significant between the two tissues. Although the 6-week aerobic training+DOX caused a down-regulation of oxidant markers and up-regulation of the SOD activity in heart and liver tissues, but only changes of the SOD activity was significant between the heart and liver tissues.

Conclusion: Our study suggests that cardiac/liver protection induced by chronically exercise in DOX treated rats is associated with inhibition of oxidative stress and increase in the antioxidant defense levels.

Keywords: Cancer, Doxorubicin, Aerobic training, Oxidative stress

Address: Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran, Tel: +989113151509

E-mail: vdabidiroshan@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2014; 25(4): 362 ISSN: 1027-3727

¹ MSc, Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

² Professor, Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran (Corresponding Author)

³ PhD Candidate, Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran