

## آسیب و استرس اکسیداتیو کبدی ناشی از القای حاد دوزهای مختلف دوکسوروبیسین: اثر پیش‌درمان شش هفته تمرین منظم هوازی

نسیم جمالی<sup>۱</sup>، ولی ا... دبیدی روشن<sup>۲\*</sup>، سیدکمال سادات حسینی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۱۱/۱۸ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰۱/۲۶

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** مطالعات قبلی اثرات جانبی القای دوکسوروبیسین (DOX) بر بافت‌های سالم را تأیید کرده‌اند، اما اثر پیش‌درمان تمرینات منظم هوازی در مهار مسمومیت کبدی ناشی از القای دوزهای مختلف DOX کاملاً مشخص نیست. هدف مطالعه حاضر تعیین اثر پیش‌درمان شش هفته تمرین هوازی بر سطوح شاخص‌های استرس و آسیب کبدی شامل پروتئین شوکی گرمایی (HSP72)، کاتالاز (CAT)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

**مواد و روش کار:** ۴۸ سر موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به دو گروه تمرین و کنترل و هریک به سه زیرگروه‌های DOX با دوز ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و سالیین تقسیم شدند. برنامه تمرین شامل دویدن روی نوارگردان به‌صورت پیش‌رونده به مدت ۲۵ تا ۵۴ دقیقه در روز با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر در دقیقه، ۵ جلسه در هفته و به مدت ۶ هفته بود. تزریق DOX و سالیین ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین انجام شد و بافت‌برداری ۲۴ ساعت پس‌از آن انجام شد. **یافته‌ها:** القای DOX با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به افزایش معنی‌دار شاخص‌های حفاظتی HSP72 و CAT و آسیب کبدی ALT و AST در مقایسه با گروه سالیین شد. شش هفته تمرین هوازی قبل از القای دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دوکسوروبیسین منجر به افزایش غیر معنی‌دار HSP72، ALT و AST و افزایش معنی‌دار CAT در مقایسه با گروه کنترل شد. بعلاوه، فقط در مقادیر HSP72 متعاقب القای دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم DOX اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** بر اساس این یافته‌ها استنباط می‌شود که پیش‌درمان با تمرینات هوازی میان‌مدت احتمالاً از طریق تنظیم مثبت سیستم آنتی‌اکسیدانته باعث کاهش آسیب کبدی شده و می‌تواند راهبردی مؤثر در مقابل سمیت کبدی ناشی از DOX باشد. **کلیدواژه‌ها:** دوکسوروبیسین، تمرین هوازی، سمیت کبدی، دستگاه حفاظت کبدی، موش‌های صحرایی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره چهارم، ص ۳۲۰-۳۱۰، تیر ۱۳۹۵

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

Email: vdabidiroshan@yahoo.com

### مقدمه

پرتو درمانی هستند (۲). دوکسوروبیسین (DOX) یا آدریامایسین، به‌عنوان یکی از مؤثرترین داروهای شیمی درمانی که به خانواده آنتراسایکلین‌ها<sup>۲</sup> تعلق دارد، به‌طور گسترده‌ای در درمان انواع تومورها بکار می‌رود؛ اما متأسفانه کاربرد بالینی دوکسوروبیسین به‌دلیل سمیت وابسته به دوز این دارو محدود شده‌است (۳، ۴). نتایج مطالعات حاکی از اثرات سمی دوکسوروبیسین بر روی بافت‌های غیر

امروزه اهمیت موضوع سرطان توجه بسیاری از تحقیقات سر تا سر جهان را به خود جلب کرده‌است. این بیماری که به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین مشکلات سلامت عمومی به‌شمار می‌رود، دومین عامل مرگ و میر در تمامی نقاط جهان شناخته شده‌است (۱). در حال حاضر درمان‌های رایج برای این بیماری، جراحی، شیمی درمانی و

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد، فیزیولوژی ورزش دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری

<sup>۲</sup> استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه مازندران (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه مازندران

<sup>۱</sup> Doxorubicin

<sup>۲</sup> Anthracyclines

تحقیقات اخیر انجام شده در این زمینه، سودمندی اثرات پیش‌گیرانه هر دو مدل تمرینی حاد (۱۲) و استقامتی (۸، ۱۱، ۱۸، ۱۹) را بر سمیت کبدی ناشی از درمان درمان با DOX گزارش نموده‌اند. علیرغم وجود اطلاعات مذکور، راهبرد انجام تمرینات منظم استقامتی میان‌مدت، به‌عنوان یک عامل حفاظتی و راهبردی پیش‌گیرانه، قبل از القای دوزهای مختلف DOX بر شاخص‌های مرتبط با استرس و مسمومیت کبدی از قبیل AST و ALT و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانتی از قبیل HSP<sub>72</sub> و کاتالاز<sup>۷</sup> (CAT)، دیدگاه تازه‌ای است که در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار خواهد گرفت. همچنین بدیهی است که مطالعه تأثیر احتمالی تمرین‌های منظم ورزشی قبل از القای حاد DOX از نظر پیشگیری از آسیب اکسایشی بافتی، به تثبیت مقوله «پیشگیری بهتر از درمان است»، کمک خواهد کرد (۱۸).

با عنایت به موارد مذکور از یک سو و از سوی دیگر نقش مؤثر کبد به‌عنوان یک عضو حیاتی در فرایندهای سوخت و سازی بدن و دفع سموم مختلف از جمله محیطی و شیمی درمانی، تحقیق حاضر به دنبال بررسی اثر پیش‌درمان ۶ هفته تمرین هوازی بر سطوح شاخص‌های آنتی‌اکسیدانتی از قبیل HSP<sub>72</sub> و CAT بافت کبد و شاخص‌های مرتبط با آسیب کبدی از قبیل AST، ALT در قبل از القای حاد دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم داروی دوکسوروبیسین در موش‌های صحرایی نر است.

## مواد و روش کار

### آزمودنی‌ها و محیط پژوهش:

پروتکل آزمایشگاهی مطالعه حاضر به‌وسیله گروه فیزیولوژی دانشگاه مازندران و بر اساس راهنمای روش‌های مراقبت و استفاده از حیوانات، تهیه شده توسط انجمن فیزیولوژی آمریکا، انجام شد. آزمودنی‌های پژوهش حاضر را ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد و بیستار ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزن اولیه  $251 \pm 32$  گرم تشکیل می‌دادند که مرکز انستیتو پاستور آمل تهیه شدند و سپس به آزمایشگاه جانوری دانشگاه مازندران منتقل شدند. آزمودنی‌ها پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید، وزن‌کشی شده و با اختلاف وزنی ۱۰ گرم به‌طور تصادفی به ۶ گروه: (۱) کنترل + سالی، (۲) کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (۳) کنترل + دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (۴) تمرین + سالی، (۵) تمرین + دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (۶) تمرین +

هدف نظیر قلب، کبد، عضلات اسکلتی، ریه‌ها، مغز، کلیه، سلول‌های خونی و بیضه‌ها است. در حقیقت دوکسوروبیسین همانند یک شمشیر دو لبه عمل می‌کند که نه تنها سلول‌های سرطانی، بلکه سلول‌های دیگر را هدف قرار می‌دهد و به آن‌ها آسیب می‌رساند (۴، ۵، ۶، ۷). در این میان بررسی‌های گسترده، سمیت کبدی را به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین عوارض جانبی درمان با DOX، معرفی کرده‌اند (۸، ۹، ۱۰).

سازوکارهای متعددی برای سمیت کبدی ناشی از درمان به‌وسیله DOX بیان شده‌است که از جمله آن می‌توان به آسیب کبدی ناشی از تولید گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS)<sup>۳</sup>، پراکسیداسیون لیپید، آسیب میتوکندری و سمیت سلولی، اشاره کرد (۱۱، ۱۲، ۱۳). در همین راستا، مشخص شده که پروتئین‌های شوک گرمایی<sup>۴</sup> که به پروتئین‌های استرسی نیز معروفند، به‌عنوان نگهدارنده قوی سلولی، در پاسخ به محرک‌های مختلف فیزیولوژیکی و محیطی از جمله دارو درمانی‌های ضد سرطانی تحریک می‌شوند و به سلول اجازه می‌دهند تا در شرایط بحرانی حیات خود را حفظ نمایند. بعلاوه، مطالعات نشان می‌دهد که ارتباط مطلوبی بین مقادیر ایزوفرم تحریک‌پذیر پروتئین شوک گرمایی ۷۲ کیلودالتونی (HSP<sub>72</sub>) و مقاومت سلول‌ها در مقابل داروهای شیمی درمانی از جمله DOX وجود دارد. نشان داده شده‌است که کاهش غلظت HSP<sub>72</sub> منجر به افزایش آسیب‌پذیری سلول‌ها در مقابل رادیکال‌های آزاد و افزایش مقادیر این فاکتور منجر به تحمل گرمایی و پایداری در مقابل استرس‌های مختلف و محافظت در مقابل اثرات سمی شوک‌های حرارتی می‌شود (۱۴). علاوه بر موارد مذکور، تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که سمیت کبدی ناشی از درمان به‌وسیله DOX موجب افزایش سطوح آنزیم‌های استرس کبدی از قبیل اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)<sup>۵</sup> و آلانین آمینوترانسفراز (ALT)<sup>۶</sup> و یا تکروز سلول‌های کبدی می‌شود (۱۵، ۱۶).

تاکنون استراتژی‌های متعددی باهدف پیشگیری از سمیت ناشی از درمان با DOX توسعه یافته‌است؛ که بعضی از آن‌ها از جمله محدود کردن دوز جمع‌ی دارو، تعدیل مصرف آنتراسایکلین، استفاده از آنالوگ‌های آنتراسایکلین و بکار بردن مکمل‌های تغذیه‌ای، مؤثرتر از روش‌های دیگر هستند (۱۷). در میان راهبردهای ارائه شده به‌عنوان مؤثرترین راه در مقابل عوارض جانبی کبدی مرتبط با درمان به‌وسیله DOX، تمرینات ورزشی و فعالیت بدنی، به‌عنوان یک راهکار غیر دارویی در برابر آسیب کبدی توصیه شده‌است (۱۲).

<sup>6</sup> Alanine aminotransferase (ALT)

<sup>7</sup> Catalase

<sup>3</sup> Reactive Oxygen Species

<sup>4</sup> Heat shock proteins

<sup>5</sup> Aspartate transaminase (AST)

(سدیم کلراید ۰/۹ درصد) به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدنشان به صورت زیر صفاقی تزریق شد.

#### بافت برداری و تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی:

تمام گروه‌ها ۲۴ ساعت پس از تزریق در شرایط استراحتی و ناشتایی، با کتامین و زایلازین با نسبت ۲ به ۵ بی‌هوش و سپس بافت کبد از ناحیه ناف جدا و پس از شستشو بلافاصله در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس تا زمان هموژنیزه شدن در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شد. جهت سنجش غلظت  $HSP_{72}$ ،  $CAT$ ،  $AST$  و  $ALT$  بافت کبد، ابتدا بافت کبد با استفاده از مایع نیتروژن پودر شد و سپس ۰/۱ گرم (۱۰۰ میلی‌گرم) از پودر ساخته‌شده با ۱ میلی‌لیتر بافر حاوی ۱۳۷ میلی مول  $NaCl$ ، ۲۰ میلی مول  $tris-HCl$  (pH/۷.۰)، ۱۰٪ گلیسرول، ۱ میلی‌مول  $PMSF$ ، ۱ میکروگرم لپتین، ۰/۵ میلی مول سدیم وانادایت و ۱۰۰ میلی‌گرم  $AEBSF$  هموژنیزه شد و سپس محلول به دست‌آمده از آن به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و برای سنجش شاخص‌های موردنظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. برای تعیین مقادیر غلظت  $HSP_{72}$ ،  $CAT$ ،  $ALT$  و  $AST$  از روش الایزا و کیت کمپانی Zellbio chemical (campany, Germany) استفاده شد.

پس از جمع‌آوری داده‌های خام، از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌ها و تعیین شاخص‌های مرکزی و پراکندگی استفاده شد. از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف (K-S) جهت بررسی تبعیت داده‌ها از توزیع طبیعی استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده‌ها، از روش تحلیل واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی (LSD) به منظور بررسی تفاوت هر یک از شاخص‌های موردنظر بین گروه‌های مختلف پژوهش استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS با نسخه ۱۶ استفاده شد. در این بررسی‌ها مقدار معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

جدول شماره ۱، مقادیر میانگین و انحراف معیار غلظت شاخص‌های آنتی‌اکسیدانتی ( $HSP_{72}$ ،  $CAT$ ) و استرس کبدی ( $ALT$ ،  $AST$ ) را در گروه‌های مختلف پژوهش حاضر نشان می‌دهد. با توجه به نتایج به دست‌آمده از شاخص‌های آنتی‌اکسیدانتی، میانگین  $HSP_{72}$  و  $CAT$  در گروه کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ و یا ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نسبت به گروه کنترل + سالیین به ترتیب افزایش و کاهش یافته است. در مقابل میزان  $HSP_{72}$  و  $CAT$  در

دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تقسیم شدند. هر گروه شامل ۸ سر موش بود؛ که به صورت 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 دوره‌ی پژوهش حیوانات از غذای ساخت شرکت بهرپرور به صورت پلت<sup>۱</sup> و با توجه به وزن‌کشی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن مصرف کردند و آب موردنیاز حیوان نیز به صورت آزاد و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس قرار داده شد.

#### برنامه تمرینی:

قبل از اجرای پروتکل تمرینی، آزمودنی‌ها به مدت یک هفته با نحوه انجام فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند. برنامه آشنایی شامل ۵ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۵ تا ۸ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه و به مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه بوده است. برنامه تمرینی برگرفته شده از مطالعه اشرفی و دبیدی روشن (۲۰۱۲) بود؛ که شامل یک دوی منظم استقامتی بر روی نوارگردان بدون شیب ویژه جوندگان با رعایت اصل اضافه بار به صورت پیش رونده با مدت زمان ۵۴-۲۵ دقیقه و با سرعت ۲۰-۱۵ متر در دقیقه به مدت ۶ هفته و ۵ جلسه در هر هفته بود. به منظور گرم کردن نیز آزمودنی‌ها در ابتدای هر جلسه تمرینی به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۷ متر بر دقیقه دویده و سپس برای رسیدن به سرعت موردنظر به ازای هر دقیقه، ۲ متر بر دقیقه به سرعت نوار گردان افزوده شد. به منظور سرد کردن بدن در انتهای هر جلسه تمرینی، سرعت نوار گردان نیز به طور معکوس کاهش یافت تا به سرعت اولیه رسید.

#### تزریق DOX و سالیین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد):

۲۴ ساعت پس از انجام آخرین جلسه تمرینی، موش‌های گروه‌های (۲) کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (۳) کنترل + دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (۵) تمرین + دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (۶) تمرین + دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داروی دوکسوروبیسین خریداری شده از کارخانه داروسازی EBEWE Pharma کشور استرالیا که طبق دستورالعمل سازنده دارو، با محلول سدیم کلراید ۰/۹ درصد به دوز ۱۰ و 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. همچنین جهت یکسان سازی شرایط همه آزمودنی‌ها و با در نظر گرفتن اثرات استرسی احتمالی ناشی از تزریق در گروه‌های دریافت کننده دارو، به موش‌های گروه: (۱) کنترل + سالیین و (۴) تمرین + سالیین، ۱ واحد انسولینی سالیین

<sup>1</sup> Pellet

گروه تمرین + سالین، نسبت به گروه کنترل+سالین به ترتیب به میزان ۲۸ و ۱۰ درصد افزایش یافته است. همچنین پس از ۶ هفته تمرین هوازی و تزریق DOX با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میانگین HSP72 افزایشی را به ترتیب به میزان ۱۶ و ۱۳ درصد و CAT افزایشی را به ترتیب ۱۰ و ۷ درصد، نسبت به گروه‌های کنترل مشابه، نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از آزمون واریانس در نمودار شماره ۱ و ۲ نشان می‌دهد که سطوح HSP72 در گروه‌های کنترل در پی تزریق دوزهای مختلف DOX در مقایسه با گروه کنترل با تزریق سالین بالا می‌رود، این میزان افزایش، تنها در گروه کنترل که تزریق ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX داشتند، نسبت به گروه کنترل با تزریق سالین، معنی‌دار بوده است ( $P=0/000$ ). میزان CAT در گروه کنترل+دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های کنترل+سالین و کنترل+دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داشته است ( $P=0/003$  و  $P=0/044$ ). در حالی که افزایش سطوح HSP72 در گروه‌های کنترل که تزریق ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX داشتند نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت.

گروه تمرین + سالین، نسبت به گروه کنترل+سالین به ترتیب به میزان ۲۸ و ۱۰ درصد افزایش یافته است. همچنین پس از ۶ هفته تمرین هوازی و تزریق DOX با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میانگین HSP72 افزایشی را به ترتیب به میزان ۱۶ و ۱۳ درصد و CAT افزایشی را به ترتیب ۱۰ و ۷ درصد، نسبت به گروه‌های کنترل مشابه، نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از آزمون واریانس در نمودار شماره ۱ و ۲ نشان می‌دهد که سطوح HSP72 در گروه‌های کنترل در پی تزریق دوزهای مختلف DOX در مقایسه با گروه کنترل با تزریق سالین بالا می‌رود، این میزان افزایش، تنها در گروه کنترل که تزریق ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX داشتند، نسبت به گروه کنترل با تزریق سالین، معنی‌دار بوده است ( $P=0/000$ ). میزان CAT در گروه کنترل+دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های کنترل+سالین و کنترل+دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داشته است ( $P=0/003$  و  $P=0/044$ ). در حالی که افزایش سطوح HSP72 در گروه‌های کنترل که تزریق ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX داشتند نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت.

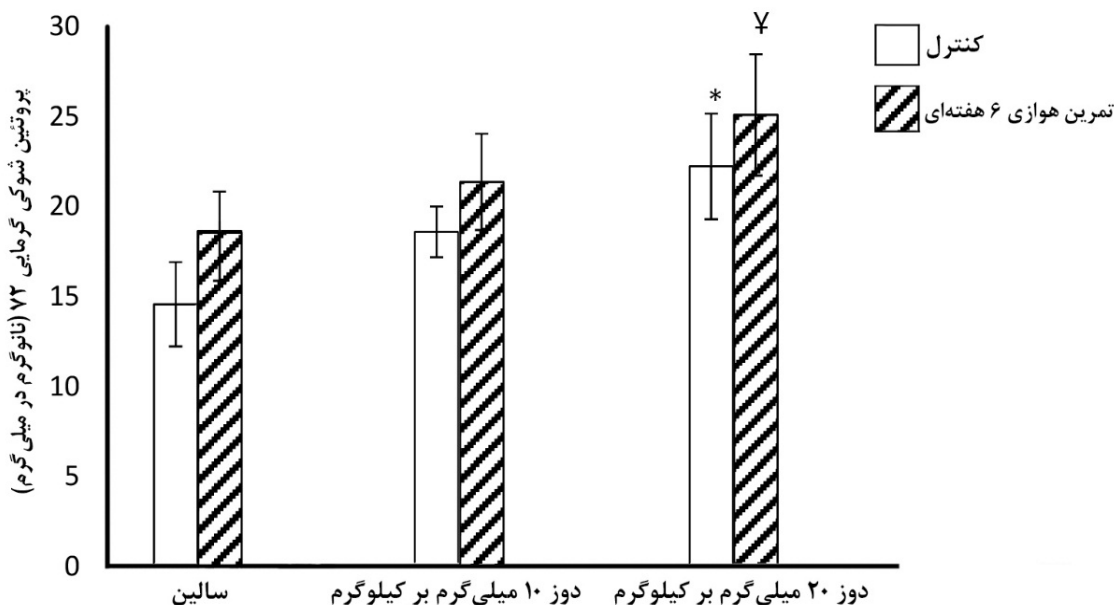
همچنین در گروه تمرین+سالین، سطوح HSP72 در مقایسه با گروه کنترل+سالین افزایش داشت، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود؛ اما سطوح CAT در گروه تمرین+سالین در مقایسه با گروه کنترل+سالین، افزایش معنی‌داری داشته است ( $P=0/000$ ). مقادیر HSP72 در گروه‌های تمرین+دوکسوروبیسین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در مقایسه با گروه کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، افزایش داشته است، اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مقابل سطوح CAT در گروه‌های تمرین+دوکسوروبیسین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در مقایسه با گروه کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش یافت؛ اما این کاهش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در مقابل، اجرای دوره تمرینی و تزریق دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX منجر به افزایش سطوح ALT و AST در مقایسه با گروه تمرین+سالین، شد ( $P=0/000$  و  $P=0/000$ ). همچنین سطوح AST در گروهی که ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX را پس از شش هفته تمرین ورزشی دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروه ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX دریافت کرده بودند، افزایش معنی‌داری داشت ( $P=0/000$ ).

همچنین در گروه تمرین+سالین، سطوح HSP72 در مقایسه با گروه کنترل+سالین افزایش داشت، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود؛ اما سطوح CAT در گروه تمرین+سالین در مقایسه با گروه کنترل+سالین، افزایش معنی‌داری داشته است ( $P=0/000$ ). مقادیر HSP72 در گروه‌های تمرین+دوکسوروبیسین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در مقایسه با گروه کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، افزایش داشته است، اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مقابل سطوح CAT در گروه‌های تمرین+دوکسوروبیسین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در مقایسه با گروه کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش یافت؛ اما این کاهش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در مقابل، اجرای دوره تمرینی و تزریق دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX منجر به افزایش سطوح ALT و AST در مقایسه با گروه تمرین+سالین، شد ( $P=0/000$  و  $P=0/000$ ). همچنین سطوح AST در گروهی که ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX را پس از شش هفته تمرین ورزشی دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروه ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX دریافت کرده بودند، افزایش معنی‌داری داشت ( $P=0/000$ ).

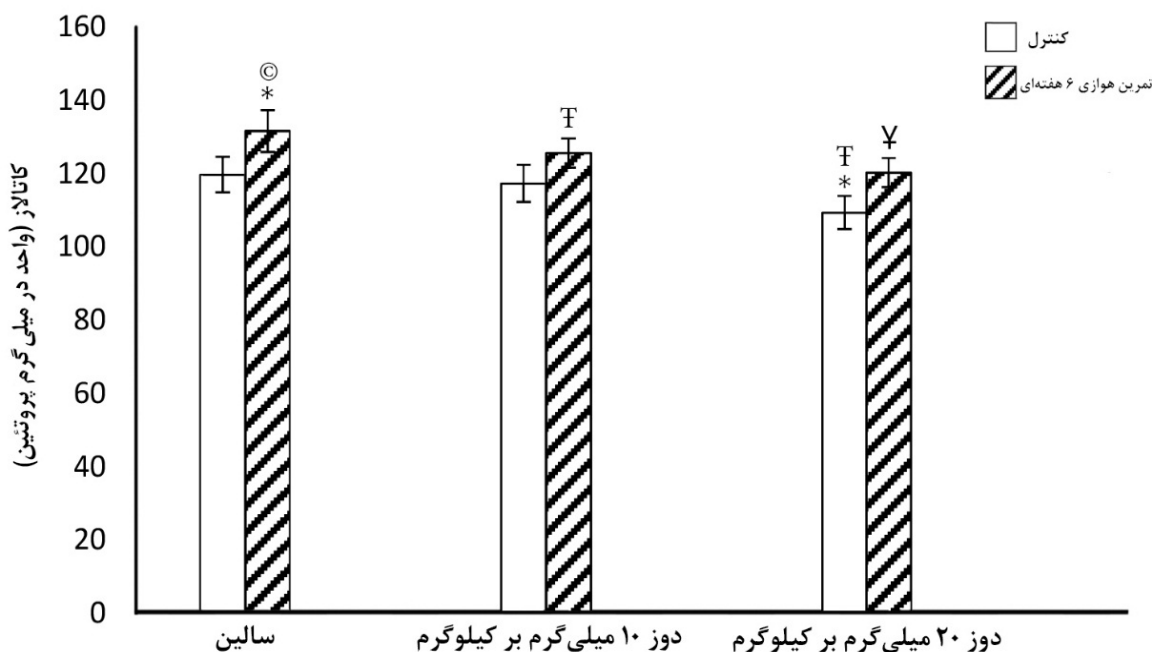
جدول (۱): میانگین و انحراف معیار مقادیر HSP72، CAT، AST، ALT گروه‌های مختلف پژوهش حاضر

شاخص	گروه‌ها				
	کنترل + سالین	کنترل + DOX <sub>10</sub> (mg.kg-1)	کنترل + DOX <sub>20</sub> (mg.kg-1)	تمرین + سالین	تمرین + DOX <sub>10</sub> (mg.kg-1)
HSP72 (نانوگرم در میلی‌گرم پروتئین)	۱۴/۴۹±۲/۳۴	۱۸/۴۷±۱/۴۱	۲۲/۱۵±۲/۹۳	۱۸/۵۲±۲/۱۹	۲۱/۳۳±۲/۶۸
CAT (واحد در میلی‌گرم پروتئین)	۱۱۹/۲۵±۴/۸۵	۱۱۷/۱۰±۵/۶۰	۱۰۹/۱۵±۴/۵۵	۱۳۱/۱۵±۵/۷۵	۱۲۵/۴۰±۳/۹۵

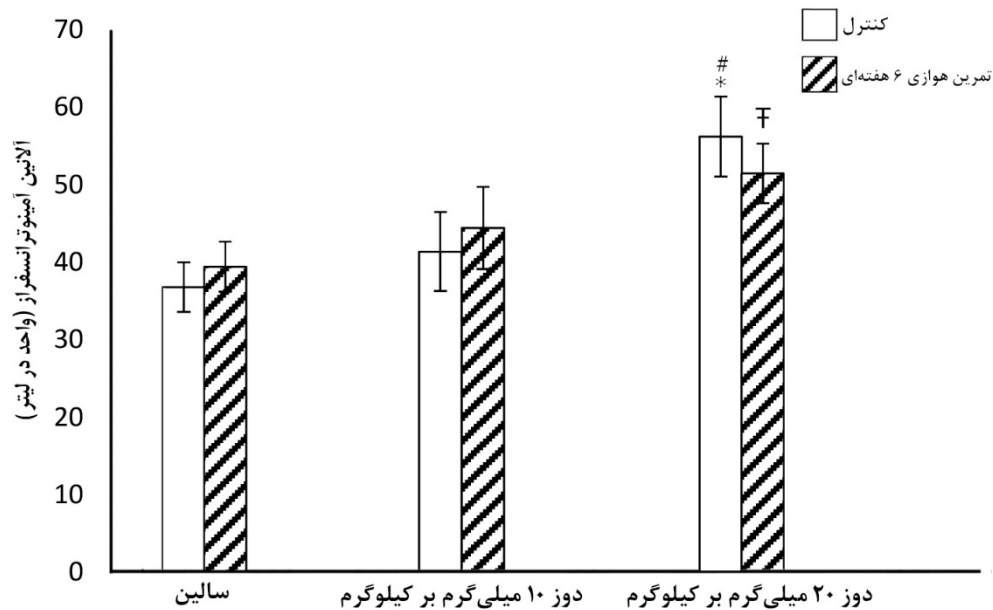
ALT (واحد در لیتر)	۳۶/۶۰ ± ۳/۲۰	۴۱/۲۰ ± ۵/۱۰	۵۶/۲۲ ± ۵/۱۶	۳۹/۴۲ ± ۳/۲۲	۴۴/۲۴ ± ۵/۳۰	۵۱/۲۹ ± ۳/۸۵
AST (واحد در لیتر)	۳۰/۱۷ ± ۳/۳۶	۳۸/۹۷ ± ۴/۳۶	۵۱/۴۸ ± ۵/۸۷	۳۱/۰۹ ± ۳/۹۸	۳۵/۰۴ ± ۳/۴۶	۴۷/۱۷ ± ۴/۷۲



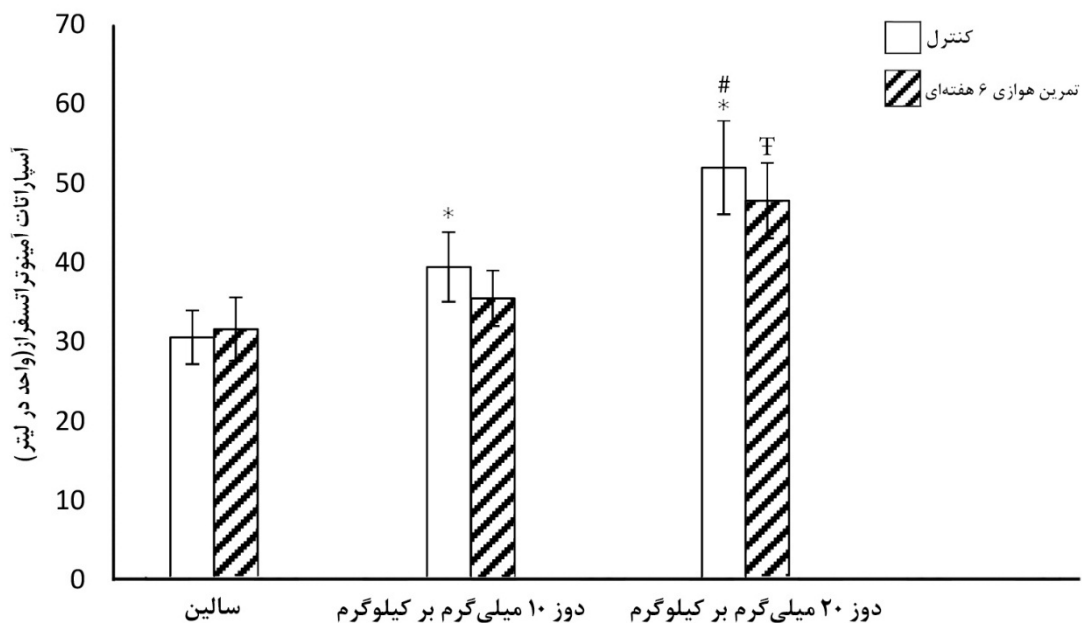
نمودار (۱): تغییرات غلظت HSP72 بافت کبد گروه‌های مختلف پژوهش، (\*) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل + سالیین، (Y) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین + سالیین است ( $P \leq 0.05$ ).



نمودار (۲): تغییرات غلظت CAT بافت کبد گروه‌های مختلف پژوهش، (\*) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل + سالیین، (F) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P \leq 0.05$ )، (Y) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل + دوکسوروبیسین ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P \leq 0.05$ ) و (C) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین + دوکسوروبیسین ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم است ( $P \leq 0.05$ ).



**نمودار (۳):** تغییرات غلظت ALT بافت کبد گروه‌های مختلف پژوهش، (\*) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل + سالین ( $P \leq 0/05$ )، (#) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $P \leq 0/05$ )، (F) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین + سالین است ( $P \leq 0/05$ ).



**نمودار (۴):** تغییرات غلظت AST بافت کبد گروه‌های مختلف پژوهش، (\*) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل + سالین ( $P \leq 0/05$ )، (#) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل + دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $P \leq 0/05$ )، (F) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین + سالین و تمرین + دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است ( $P \leq 0/05$ ).

## بحث و نتیجه‌گیری

اکسایشی و آسیب ایجادشده توسط DOX است. همچنین نشان داده شد که تمرین استقامتی می‌تواند موجب افزایش مکانیزم‌های حفاظتی و کاهش استرس اکسایشی، ناشی از تزریق دوکسوروبیسین شود.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تزریق حاد DOX، منجر به سمیت کبدی در موش‌های صحرایی می‌شود که به‌وسیله عدم تعادل مقادیر آنتی‌اکسیدانتهی و پروتئین‌های استرسی در بافت کبد نمایان شد. این نتایج نمایانگر یک رابطه بالقوه بین استرس

بازداری ترشح یا عدم حضور HSP72 منجر به افزایش قابلیت آسیب‌پذیری سلولی در مقابل استرس‌ها و تنظیم مثبت HSP72 با تحمل گرمایی و مقابله با استرس‌های سلولی همبسته است و محافظت در مقابل اثرات سمی شوک‌های حرارتی را بر عهده دارد (۲۴، ۲۵، ۲۶). همچنین کاتالاز، به‌عنوان همپروتئینی که در پروکسی زوم‌ها قرار گرفته است و کار کاتالیز واکنش تجزیه  $H_2O_2$  به آب و اکسیژن را بر عهده دارد و مسئولیت محافظت از سلول، در مقابل آسیب آسایشی را بر عهده دارد، وظیفه خنثی کردن رادیکال‌های آزاد از راه محدود کردن انباشت  $O_2$  و  $H_2O_2$  که در طول پروسه معمول متابولیسم هوازی اتفاق می‌افتد را به عهده دارد و از آسیب سلولی جلوگیری می‌کند. 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 می‌گردد (۲۷).

سایر نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد، تزریق DOX در پی دوره تمرین هوازی، منجر به افزایش سطوح HSP72 و افزایش اثرات محافظتی آن در مقابل آسیب بافتی ناشی از DOX می‌گردد. این تغییرات در دوزهای مختلف DOX، نشان می‌دهد که تنها تزریق دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX پس از دوره تمرین هوازی، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل مشابه که سالین به آن‌ها تزریق شده بود، نشان داد.

به همین صورت، سطوح کاتالاز در گروه‌هایی که دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX را پس از دوره تمرین ۶ هفته‌ای دریافت کردند، به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترلی که دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX را دریافت کرده بودند، افزایش یافته است. افزایش انباشتگی کاتالاز می‌تواند تعبیر به این شود که میزان رادیکال‌های آزاد و سموم بیشتری از بافت موردنظر حذف می‌شود.

نکته‌ای که نباید از نظر دور بماند، این است که میزان کاتالاز در گروه‌هایی که تحت تزریق DOX قرار گرفته بودند، نسبت به گروه‌های کنترل با تزریق سالین مشابه، کاهش یافته است؛ که این کاهش در گروه تمرین+دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در مقایسه با گروه تمرین+سالین معنی‌دار است. بررسی این شاخص به همراه شاخص پروتئین شوک گرمایی ۷۲ کیلو دالتونی (HSP72) می‌تواند اندکی روشن‌کننده اثر شاخص‌های استرس اکسایشی باشد. چون افزایش این شاخص در گروهی که تمرینات ۶ هفته‌ای را اجرا کرده بودند و تزریق ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX داشتند، با افزایش معنی‌دار شاخص پروتئین شوک گرمایی همراه بوده است. در مجموع ورزش که باعث افزایش سطوح HSP72 شد، توانست باعث افزایش سطوح کاتالاز و در نتیجه باعث عدم سرکوب پاسخ استرسی

در سال‌های اخیر، علیرغم استفاده گسترده بالینی از داروی ضد سرطانی DOX، این دارو اغلب به بافت‌های غیر هدف آسیب می‌رساند. محققان مکانیزم‌های متعددی برای توضیح سمیت ایجادشده به‌وسیله این دارو را گزارش 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 (۲۱) و بیش از این مکانیزم‌های مفروض دیگر همانند کاهش سطوح آنتی‌اکسیدانتی و گروه‌های سولفیدریل، بازداری اسیدنوکلئیک و سنتز پروتئینی، آزادسازی آمین‌های وازواکتین، تغییر فاکتورهای آدرنژیک و کاهش بیان ژن‌های خاص از این دست می‌باشند. به‌رحال مکانیزم‌های پیشنهادی سمیت DOX، استرس اکسایشی را افزایش می‌دهد و به‌عنوان شاهدهی برای افزایش سطوح گونه‌های اکسیژنی فعال و پراکسیداسیون لیپیدی است (۲۲). نتایج حاصل از مطالعات اخیر، حاکی از آن است که به‌احتمال زیاد رادیکال‌های آزاد در تمام مکانیزم‌های مخرب DOX دخیل بوده و افزایش استرس اکسیداتیو و آزادسازی رادیکال‌های آزاد در مقابل دفاع آنتی‌اکسیدانتی نقش عمده‌ای را در خسارت ناشی از DOX بازی می‌کند (۱۶، ۲۳).

نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده افزایش در مقادیر پروتئین شوک گرمایی (HSP72) و کاهش در سطوح کاتالاز (CAT) بافت کبد بر اثر تزریق دوزهای مختلف DOX، در گروه‌های کنترل است. به‌طور دقیق‌تر یافته‌ها حاکی از آن است که میزان افزایش غلظت HSP72، تنها در گروه کنترل که تزریق ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX داشتند، نسبت به گروه کنترل با تزریق سالین، معنی‌دار بوده است. همچنین میزان غلظت کاتالاز در گروه کنترل+دوکسوروبیسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های کنترل+سالین و کنترل+دوکسوروبیسین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داشته است. این تغییرات علاوه بر تأیید اثرات سمی DOX بر استرس اکسایشی بافت کبدی، نشان‌دهنده سمیت بیشتر دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از این دارو نسبت به دوزهای پایین‌تر است. این یافته‌ها همسو با تحقیقات اشرفی و همکاران (۱۳۹۳)، ذوالفقارزاده و همکاران (۱۳۹۳)، علیشاهی و همکاران (۲۰۱۳) و کاوازیس و همکاران (۲۰۱۰) است که افزایش در میزان غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی را در پی تزریق ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX گزارش کرده‌اند (۱۸، ۱۱، ۱۹، ۱۴).

در خصوص افزایش HSP72 و کاهش میزان غلظت کاتالاز پس از القای DOX، سایر تحقیقات چنین استنباط کرده‌اند که HSP72 به‌عنوان یکی از شاخص‌های استرسی که در هسته و سیتوپلاسم قرار دارد، پروتئینی است که ترشح آن در پاسخ به استرس‌های سلولی مختلف و ناهنجاری‌های محیطی و فیزیولوژیکی تحریک می‌شود و

بود که این می‌تواند دلیلی بر آسیب کبدی باشد که آن را به دوز بالای دارو در تزریق حاد می‌توان ربط داد؛ اما این نکته را نباید از نظر دور داشت که دوره تمرینی در مجموع موجب کاهش هرچند غیر معنی‌دار در میزان شاخص‌های آسیب کبدی شد. کاهش در فاکتورهای فوق‌الذکر در موش‌های گروه‌هایی که تحت تزریق دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX پس از تمرین قرار گرفته‌اند، نسبت به گروه‌های کنترل مشابه، بیانگر کاهش آسیب بافت کبد است و بر اثرات محافظتی تمرین استقامتی بر آسیب بافت کبدی بر اثر تزریق DOX دلالت می‌کند (۳۱).

به‌طور کلی مطالعه حاضر تغییرات معنی‌داری آسیب اکسایشی در بافت کبدی پس از دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX را آشکار می‌کند، مکانیزم احتمالی دیگری که می‌تواند سمیت کبدی پس از تزریق هر دو دوز DOX را توضیح دهد، بر هم خوردن تعادل بین سیستم اکسیدانسی و آنتی‌اکسیدانسی است. محققان پیشنهاد می‌کنند که ناهنجاری‌های اکسیداتیو نظیر تزریق DOX در اندام‌های مختلفی باعث تغییرات میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانسی می‌شود (۳۲). همچنین نتایج نشان می‌دهد تغییرات آنزیماتیک و غیر آنزیماتیک بعد از تمرین استقامتی می‌تواند موجب افزایش مکانیزم‌های حفاظتی و کاهش استرس اکسایشی، ناشی از تزریق DOX شود. در همین راستا بسیاری از محققان گزارش کرده‌اند که تمرین منظم منجر به فعال شدن مکانیزم‌های داخلی برای زدودن پروتئین‌های اکسیداتیو و یا عملکرد بهتر سیستم‌های آنتی‌اکسیدانسی در زدودن ذرات اکسیژن فعال از چرخه خون می‌شوند (۳۳).

بر اساس یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد که میزان سمیت کبدی در موش‌های غیرفعال تحت تزریق دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم DOX بیش از موش‌های فعالی بود که تحت تأثیر دوزهای مشابه از دارو قرار گرفتند. تحقیق حاصل نشان‌دهنده این است که بهره‌گیری از شیوه‌های غیردارویی مانند اجرای تمرینات استقامتی قبل از تزریق داروی DOX می‌تواند از طریق افزایش مکانیزم‌های حفاظتی و کاهش استرس اکسایشی از سمیت کبدی ناشی از دارو بکاهد و به‌عنوان یک رویکرد پیشگیرانه قبل از درمان DOX مورداستفاده قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

با سپاس به درگاه خداوند متعال، بر خود لازم می‌دانیم از همکاری صادقانه تمامی افرادی که محققان را در مراحل مختلف اجرای پروتکل تحقیق یاری نموده‌اند، به‌ویژه از مسئولین آزمایشگاه دانشگاه مازندران، صمیمانه سپاسگزاری نماییم.

بدن گردد. بر طبق مطالعات پیشین این افزایش مشاهده‌شده در میزان HSP می‌تواند با کمک به افزایش اثربخشی داروهای تزریقی نیز همبسته باشد (۲۸). نتایج رول و همکاران (۲۰۰۹) حاکی از آن است که افزایش سطوح HSP72 در سلول، یکی از اثرات سمپاتیک و محافظتی فعالیت بدنی است که منجر به اثر حفاظتی معنی‌داری در مقابل هایپرترمی، افزایش سطوح فاکتور نکروز توموری بافتی یا سرمی می‌گردد.

از سوی دیگر، آسیب در کبد که مرکز سمیت زدایی متابولیکی بدن است، به‌وسیله تغییرات در فعالیت‌های آنزیمی آن مورد شناسایی قرار می‌گیرد (۲۹). از جمله شاخص‌های مهم شناسایی آسیب کبدی، الانین آمینو ترانسفراز ALT و AST هستند؛ که در پژوهش حاضر مورداندازه‌گیری قرار گرفته‌اند. درواقع بر مبنای بسیاری از تحقیقات و پژوهش‌ها، ALT نشانگر زیستی، مرجع استاندارد و اصلی برای تشخیص آسیب کبدی ناشی از داروها، است (۲۷).

یافته‌های مطالعه حاضر نشان‌دهنده این است که تزریق حاد دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم DOX، میزان غلظت شاخص‌های آسیب کبدی نظیر ALT و AST را به‌طور معنی‌داری بالا می‌برد. همچنین تزریق حاد دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم DOX، موجب افزایش معنی‌دار مقادیر AST شد. این افزایش در ALT و AST به آسیب کبدی و کاهش عملکردهای طبیعی کبدی نسبت داده می‌شود. علاوه بر این یافته‌ها نشان می‌دهد که القای دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم DOX، نسبت به دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، منجر به افزایش بیشتر و معنی‌دار مقادیر ALT و AST بافت کبد می‌شود. همان‌طور که اشاره شد، افزایش در سطوح ALT نمایانگر نقص عملکرد کبدی است و این مناسب‌ترین نشانه برای تشخیص آسیب کبدی است (۳۰). AST که به‌صورت طبیعی در کبد و قلب، گلبول‌های قرمز خون، بافت عضلانی و کلیه‌ها یافت می‌شود، معمولاً به‌طور نرمال به میزان بسیار اندک در خون یافت می‌شود، وقتی یکی از اندام‌ها مثل قلب یا کبد دچار آسیب می‌شود، AST را به درون خون آزاد می‌کند. مقدار AST به‌طور مستقیم با آسیب بافتی مربوط است و مقدار آن حدود ۶ تا ۱۰ ساعت پس از آسیب بالا رفته و تا حدود چهار روز بالا می‌ماند. افزایش در سطوح ALT یا AST بافت کبد که توسط تزریق DOX ایجاد شده‌است، در مطالعات قبلی نیز مشاهده شده است (۱۶، ۲۷).

سایر یافته‌ها نشان می‌دهد، در گروهی که تمرینات هوازی را اجرا نمودند و پس‌از آن دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از DOX را دریافت نمودند، نسبت به گروه‌هایی که پس از دوره تمرینی مشابه، تزریق سالین داشتند، میزان ALT و AST به‌طور معنی‌داری بالاتر



**References:**

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015;65(1):5–29.
2. Li M, Xiong Z-G. Ion channels as targets for cancer therapy. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2011;3(2):156–66.
3. Alexieva B, Sainova I, Pavlova V. Insights into Mechanisms of Doxorubicin Cardiotoxicity. *J Phys Pharm Adv* 2014; 4(3): 342-8.
4. Marques-Aleixo I, Santos-Alves Es, Mariani D, et al. Physical exercise prior and during treatment reduces sub-chronic doxorubicin-induced mitochondrial toxicity and oxidative stress. *Mitochondrion* 2015; 20: 22–33.
5. Sin TK, Tam BT, Yung BY, Yip SP, Chan LW, Wong CS, et al. Resveratrol protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in aged hearts through the SIRT1-USP7 axis. *J Physiol (Lond)* 2015;593(8):1887–99.
6. Sin TK, Tam BT, Yu AP, Yip SP, Yung BY, Chan LW, et al. Acute Treatment of Resveratrol Alleviates Doxorubicin-Induced Myotoxicity in Aged Skeletal Muscle Through SIRT1-Dependent Mechanisms. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2016;71(6):730–9.
7. 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.
8. Zolfagharzadeh F, Dabidi Roshan V. Pretreatment Hepatoprotective Effect of Regular Aerobic Training against Hepatic Toxicity Induced by Doxorubicin in Rats. *Asian Pacifi J Cancer Prev* 2013; 14(5): 2931-6.
9. El-Sayyad HI, Ismail MF, Shalaby FM. Histopathological effects of cisplatin, doxorubicin and 5-fluorouracil (5-FU) on the liver of male albino rats. *Int J Biol Sci* 2009; 5(5): 466-73.
10. Sakr SA, Mahran HA, Lamfon HA. Protective effect of ginger (*Zingiber officinale*) on Adriamycin - induced hepatotoxicity in albino rats. *J Med Plant Res* 2011; 5(1): 133-40.
11. Ashrafi J, Dabidi-Roshan V, Zolfagharzadeh F. Tissue toxicity Induced by Doxorubicin in rats: protective role of aerobic regular exercise. *Urmia Med J* 2014; 25(4): 362. (Persian)
12. Ascensao A, Lumini-Oliveira J, Machado NG, and et al. Acute exercise protects against calcium-induced cardiac mitochondrial permeability transition pore opening in doxorubicin-treated rats. *Clin Sci (Lond)* 2011; 1: 37–49.
13. Kumral A, Giriş M, Soluk-Tekkeşin M, et al. Beneficial effects of carnosine and carnosine plus vitamin E treatments on doxorubicin-induced oxidative stress and cardiac, hepatic, and renal toxicity in rats. *Hum Exp Toxicol* 2015; 1–9.
14. Kavazis AN, Smuder AJ, Min K. Short-term exercise training protects against doxorubicin-induced cardiac mitochondrial damage independent of HSP72. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299(5): 1515-24.
15. Salouge I, Alil RB, Saïd DB, et al. Means of evaluation and protection from doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats. *J Can Res Ther* 2014; 10(2): 274-8.
16. Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis E.K, et al. Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. *J Mol Cell Cardiology* 2007; 42: 549-58.
17. Shirinbayan V, Roshan VD. Pretreatment effect of running exercise on HSP70 and DOX-induced cardiotoxicity. *Asian Pacifi J Cancer Prev* 2011; 13(11): 5849-55.
18. Zolfagharzadeh F, Dabidi-Roshan V, Hajizadeh Moghaddam A. Pretreatment Effect of Three and Six weeks Aerobic Exercise on Acute Doxorubicin-Induced Hepatic Stress. *Modern Olympic* 2015; 1(2): 117-28. (Persian)

19. Alishahi A, Dabidi-Roshan V, Hedayati M. Pretreatment Effects of Regular Aerobic Training on the IGF System and Hepatotoxicity Induced by Doxorubicin in Rats. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14 (12): 7427-31.
20. Ashrafi J, Dabidi-Roshan V, Mahjoub S. Cardio protective effects of aerobic regular exercise against doxorubicin-induced oxidative stress in rat. *Afr J Pharm Pharmacol* 2012; 6(31): 2380-8.
21. Swamy AV, Gulliyasa S, Thippeswamy A. Cardio protective effect of Curcumin against doxorubicin-induced myocardial toxicity in albino rats. *Indian J Pharmacol* 2012; 44: 73-7.
22. Chatterjee K, Zhang J, Honbo N. Doxorubicin Cardiomyopathy. *Cardiology* 2010; 115: 155-62.
23. ViswanathaSwamy AHM, Wangikar UBC, Koti AHM. Cardioprotective effect of ascorbic acid on doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats. *Indian J Pharmacol* 2011; 43(5): 507-11.
24. Injac R, Perse M, Cerne M. Protective effects of fullereneol C60 (OH) 24 against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats with colorectal cancer. *Biomaterials* 2009; 30: 1184-96.
25. 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: 286-90.
26. Ruell PA, Thompson MW, Hoffman KM. Heat shock proteins as an aid in the treatment and diagnosis of heat stroke. *J Thermal Biology* 2009; 34: 1-7.
27. Tayeb W, Nakbi A, Trabelsi M. Hepatotoxicity induced by sub-acute exposure of rats to 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid based herbicide "Désormone lourde". *J Hazard Mater* 2010; 180: 225-33.
28. Binder RJ. Heat-shock protein-based vaccines for cancer and infectious disease. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7 (3): 383-93.
29. Henninger C, Huelsenbeck J, Huelsenbeck S. The lipid lowering drug lovastatin protects against doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 261: 66-73.
30. Ennulat D, Magid-Slav M, Rehm S. Diagnostic Performance of Traditional Hepatobiliary Biomarkers of Drug-Induced Liver Injury in the Rat. *Toxicol Sci* 2010; 116: 397-412.
31. Betof AS, Dewhirst MW. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: a translational perspective. *Brain Behav Immune* 2013; 30: 75-87.
32. Sun X, Kang YJ. Prior Increase in Metallothionein Levels Is Required to Prevent Doxorubicin Cardiotoxicity. *Exp Biol Med* 2002; 227: 652-7.
33. Ascensao A, Magalhaes J, Soares J. Endurance training attenuates doxorubicin-induced cardiac oxidative damage in mice. *Int J Cardiol* 2005; 100: 451-60.

## HEPATIC DAMAGE AND OXIDATIVE STRESS INDUCED BY ACUTE ADMINISTRATION VARIOUS DOSAGES OF DOXORUBICIN: PRETREATMENT EFFECT OF SIX WEEKS REGULAR AEROBIC EXERCISE

Nasim Jamali<sup>1</sup>, Valiollah Dabidi Roshan<sup>2\*</sup>, Seyed Kamal Sadat-Hoseini<sup>3</sup>

Received: 8 Feb, 2016; Accepted: 15 Apr, 2016

### Abstract

**Background & Aims:** Previous studies have confirmed the sidelong effects of Doxorubicin (DOX) on healthy tissues, but pretreatment effect of regular Aerobic exercise in restrain of hepatotoxicity induced by various dosages of doxorubicin is not clear. The aim of this study was to determine the pretreatment effect of six weeks aerobic exercise on stress markers level and liver injury, including heat shock protein (HSP72), Catalase (CAT), Alanine aminotransferase (ALT) and Aspartate transaminase (AST) in male Wistar rats.

**Materials & Methods:** Forty-eight Wistar male rats were randomly assigned to control and training groups with three subgroups: DOX10mg/kg, DOX20mg/kg and saline. The training protocol included treadmill running progressively between 25 to 54 min/day and 15 to 20m/min, 5 days/week for six weeks. DOX and saline injection was performed 24 h after the last exercise session, and tissue collection was done 24 h after the injections.

**Results:** Administration of DOX20mg/kg caused a significant increase in markers related to hepatic protection (HSP72, CAT) and hepatic injury (ALT, AST) as compared to saline group. Six weeks training before DOX 20mg/kg and DOX 10mg/kg administration led to insignificant increase in HSP72, ALT, AST and a significant increase in CAT as compared to control group. In addition, there was no significant difference between DOX20mg/kg and DOX 10mg/kg, just in HSP72.

**Conclusion:** It can be concluded that pretreatment with sub-chronic aerobic exercise, probably by up-regulation the antioxidant system, reduces hepatic damage and can be an effective strategy against DOX-induced hepatotoxicity.

**Keywords:** Doxorubicin, Aerobic exercise, Hepatotoxicity, Hepatic protection system, Rats

**Address:** Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

**Tel:** +989113151509

**Email:** v.dabidi@umz.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2016; 27(4): 320 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> M.Sc. in Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

<sup>2</sup> PHD, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran (Corresponding Author)

<sup>3</sup> M.Sc. Student of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Department of Sport Physiology, University of Mazandaran, Babolsar, Iran