

Research Paper

Effect of Eight Weeks of High Intensity Interval Training and Crocin Consumption on Serum Markers of Dox-induced Cardiotoxicity in Male Wistar Rats



Razieh Ahmadi Qaracheh¹ , *Mohammad Fathi¹ , Masoud Rahmati¹

1. Department of Physical Education, Faculty of Literature and Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran.



Citation Ahmadi Qaracheh R, Fathi M, Rahmati M. [Effect of Eight Weeks of High Intensity Interval Training and Crocin Consumption on Serum Markers of Dox-induced Cardiotoxicity in Male Wistar Rats (Persian)]. *Complementary Medicine Journal*. 2022; 12(2):136-147. <https://doi.org/10.32598/cmja.12.2.615.2>

<https://doi.org/10.32598/cmja.12.2.615.2>



Article Info:

Received: 05 Jan 2022

Accepted: 04 Jul 2022

Available Online: 01 Jul 2022

Keywords:

Doxorubicin,
High intensity
interval training,
Crocin, Lactate
dehydrogenase,
Creatine Kinase

ABSTRACT

Objective Doxorubicin (Dox) is a very effective drug for the treatment of a wide range of cancers. However, in healthy tissues, especially cardiac tissue, it can lead to cytotoxicity. This study aims to determine the effect of 8 weeks of high intensity interval training (HIIT) and crocin consumption on serum markers of Dox-induced cardiotoxicity in male rats

Methods In this study, 32 male Wistar rats were randomly divided into four groups: healthy control, doxorubicin, doxorubicin + HIIT, and doxorubicin + crocin + HIIT. The HIIT program was performed for 8 weeks, five days a week, with two 2-min intervals and 80% intensity in the first week and eight 2-minute intervals and 90% intensity of maximum speed in the final weeks. The last group received 10 mg/kg body weight of crocin by gavage for 8 weeks. Dox was injected subcutaneously seven times at a dose of 2 mg/kg. Forty-eight hours after the last training session and after anesthesia, blood samples were taken directly from the left ventricle; after separating serum from plasma, the levels of lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase isoenzyme (CK-MB) were measured. Data were analyzed using independent t-test and one-way analysis of variance. The significance level was set at 0.05.

Results The Dox injection led to a significant increase in LDH and CK-MB levels in rats compared to the healthy control group ($P=0.001$). However, 8 weeks of HIIT significantly reduced the serum levels of LDH ($P=0.001$) and CK-MB ($P=0.017$) compared to the Dox group. In addition, 8 weeks of HIIT plus crocin consumption significantly reduced the LDH ($P=0.001$) and CK-MB ($P=0.001$) levels compared to the Dox group. There was no significant difference between the effects of HIIT alone and HIIT plus crocin consumption on the serum levels of LDH ($P=0.087$) and CK-MB ($P=0.877$) in rats received doxorubicin.

Conclusion It seems that HIIT alone and in combination with crocin consumption can reduce the changes in serum levels of LDH and CK-MB induced by doxorubicin.

* Corresponding Author:

Mohammad Fathi, PhD.

Address: Department of Physical Education, Faculty of Literature and Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

Tel: +98 (916) 3972041

E-mail: fathi.m@lu.ac.ir



Extended Abstract

1. Introduction

Doxorubicin (Dox) is a drug from the family of anthracyclines, which is used in the treatment of a wide range of malignancies such as lymphoma and leukemia [1, 2]. In addition to the anti-tumor effects of this drug, side effects such as the toxicity of healthy tissues including heart tissue, have caused a serious problem in the use of this drug for the treatment of cancers [3]. There are several methods to reduce the side effects caused by Dox toxicity, such as limiting the cumulative dose of the drug, reducing its consumption, and performing continuous aerobic activity [3, 9]. Moderate intensity physical activity, as one of the appropriate protective strategies, can protect the heart against Dox-induced cardiotoxicity [10]. Metabolic, muscular and cardiovascular adaptations in healthy and affected groups depend on the intensity of physical activity. The beneficial effects of high intensity interval training (HIIT) are much greater and more acceptable than continuous aerobic training in reducing inflammatory and traditional risk markers, despite the short time and reduced amount of activity [12, 13]. In addition to physical activity, medicinal plants with different biological properties have protective effects against the toxicity caused by chemical substances due to having no side effects [18]. Crocin, which is one of the effective components in the saffron plant, has strong antioxidant and anti-inflammatory effects [19]. This study aims to investigate the combined effect of HIIT and crocin supplementation on serum markers of cardiac damage including lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK-MB) isoenzyme.

Methods

In this study, 32 male Wistar rats with an average weight of 200-220 g were prepared and kept in suitable conditions. Then, they were randomly divided into four groups: healthy control (saline), doxorubicin (patient control), doxorubicin + HIIT, and doxorubicin + HIIT + crocin. The last two groups performed the HIIT for 8 weeks, 5 days per week in the form of 2-minute intervals of high and low-intensity running on the treadmill. Crocin was prepared as a ready-made powder in 1 and 5 g vials with a purity of 98% (Sigma, USA). The last group received 10 mg/kg body weight of crocin dissolved in 10 mg/kg normal saline orally (by gavage) on training days. Doxorubicin was purchased from the ABO company, Belgium. Then, seven doses were diluted with normal saline to prepare the desired dose and was injected subcutaneously seven times at the end of each week. LDH and CK-MB levels were measured using special laboratory kits according to the instructions of the manufacturer and by spectrophotometric method. To determine the level of CK activity, CK-MB isoform kit (Pars Azmoun, Tehran, Iran) was used. The standard method proposed by the German Society of Clinical Chemistry (DGKC) was used to measure LDH activity [26]. The obtained data were analyzed using appropriate statistical tests. The significance level was set at 0.05.

Results

The data related to the mean and standard deviation of the study variables for each group are presented in Table 1. The results showed that the lowest levels of CK-MB and LDH enzymes were in the healthy control group and the highest levels were in the doxorubicin group (Table 1). Data analysis showed that injection of doxorubicin caused a significant increase in serum levels of LDH and CK-MB compared to the healthy control group ($P=0.001$) (Table 2). There was no significant difference between the effects of HIIT alone and HIIT plus crocin

Table 1. Mean levels of the study variables

| Groups | CK-MB (μ L) | LDH (μ L) |
|-------------------------|-----------------------|-------------------------|
| Healthy control | 829.125 \pm 340.33 | 2526 \pm 242.63 |
| Doxorubicin | 248.250 \pm 441.55 | 5569.750 \pm 396.19 |
| Doxorubicin+HIIT | 1803.250 \pm 558.66 | 3626 \pm 6 \pm 5.74 |
| Doxorubicin+HIIT+Crocin | 1650.750 \pm 211.11 | 3088.500 \pm 419.36 |



Table 2. Results of independent t-test for assessing the effects of doxorubicin injection on the study variables

| Variables | t | df | P |
|-----------|---------|----|---------|
| CK-MB | -8.387 | 14 | 0.001** |
| LDH | -18.530 | 14 | 0.001** |

**Significant at $P < 0.01$

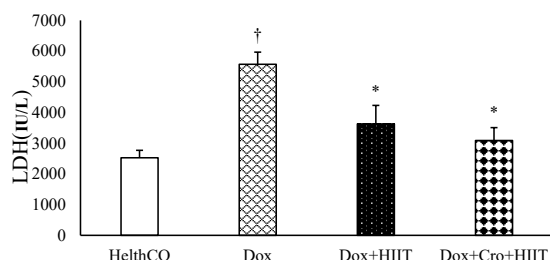


Figure 1. Mean levels of LDH enzyme (μL) in four study groups.
†Significant difference compared to the healthy control group,
* Significant difference compared to the doxorubicin group

consumption on the serum levels of LDH ($P=0.087$) and CK-MB ($P=0.877$) in rats received doxorubicin (Figures 1 and 2).

Discussion

The results showed that the Dox injection led to a significant increase in LDH and CK-MB levels in rats, but HIIT alone and in combination with crocin consumption reduced the changes in serum levels of LDH and CK-MB induced by doxorubicin. There was no significant difference between the effects of HIIT alone and HIIT plus crocin consumption on the serum levels of LDH and CK-MB in rats received doxorubicin.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the ethics committee of Lorestan University of Medical Sciences (Code: IR.LUMS.REC.1399.221).

Funding

This study was extracted from the master thesis of first author and funded by Lorestan University of Medical Sciences.

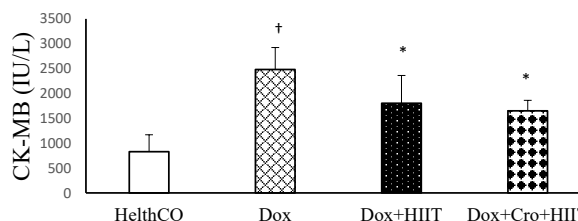


Figure 2. Mean levels of CK-MB isoenzyme (μL) in four study groups.

†Significant difference compared to the healthy control group,
* Significant difference compared to the doxorubicin group

Authors' contributions

All authors equally contributed to preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Vice-Chancellor for research of Lorestan University of Medical Sciences for their support.

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف کروسین بر نشانگرهای سرمی سمیت بافت قلب ناشی از تزریق دوکسوریبسن در رت‌های نر نژاد ویستار

راضیه احمدی قراچه^۱، محمد فتحی^۱، مسعود رحمتی^۱

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.



Citation Ahmadi Qaracheh R, Fathi M, Rahmati M. [Effect of Eight Weeks of High Intensity Interval Training and Crocin Consumption on Serum Markers of Dox-induced Cardiotoxicity in Male Wistar Rats (Persian)]. *Complementary Medicine Journal*. 2022; 12(2):136-147. <https://doi.org/10.32598/cmja.12.2.615.2>

doi <https://doi.org/10.32598/cmja.12.2.615.2>

چکیده

هدف: دوکسوریبسن یک داروی بسیار مؤثر در درمان طیف وسیعی از سرطان‌هاست. باوجود این، در بافت‌های سالم، به‌ویژه بافت قلب موجب عوارض سیتوتوکسیک می‌شود؛ بنابراین هدف از پژوهش حاضر، تعیین تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف کروسین بر نشانگرهای سرمی سمیت بافت قلب ناشی از تزریق دوکسوریبسن در موش‌های صحرایی بود.

روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی به روش تصادفی در ۴ گروه کنترل سالم، دوکسوریبسن، دوکسوریبسن و آزمایش و دوکسوریبسن، کروسین و آزمایش قرار گرفتند. برنامه تمرین تناوبی شدید در ۸ هفته، ۵ روز در هفته و هر روز از ۲ تناوب ۲ دقیقه‌ای و شدت ۸۰ درصد در هفته اول شروع و با ۸ تناوب ۲ دقیقه‌ای و شدت ۹۰ درصد سرعت بیشینه در هفته‌های پایانی انجام شد. گروه دریافت‌کننده مکمل، مقدار ۱۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین به مدت ۸ هفته به صورت گاواژ دریافت کردند. دوکسوریبسن به صورت زیرصفاقی ۷ بار و هر بار به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و بعد از بیهوش کردن موش‌ها، نمونه خون مستقیماً از بطن چپ گرفته شد و پس از جداسازی سرم از پلاسما سطوح لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تی مستقل و آنالیز واریانس یک‌راهه با سطح آماری $P < 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد القای دوکسوریبسن موجب افزایش معنادار سطوح لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB در موش‌های صحرایی در مقایسه با گروه کنترل سالم شد ($P = 0.001$). در مقابل، انجام ۸ هفته تمرین تناوبی شدید باعث کاهش معنادار سطوح سرمی لاکتات دهیدروژناز ($P = 0.001$) و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB ($P = 0.017$) در مقایسه با گروه دوکسوریبسن شد. همچنین انجام ۸ هفته تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف کروسین باعث کاهش معنادار سطوح لاکتات دهیدروژناز ($P = 0.001$) و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB ($P = 0.001$) در مقایسه با گروه دوکسوریبسن شد. بین تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و ترکیب تمرین و کروسین بر سطح لاکتات دهیدروژناز ($P = 0.087$) و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB ($P = 0.877$) موش‌های صحرایی قرار گرفته در معرض القای دوکسوریبسن تفاوت معناداری وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید به تنهایی و نیز در ترکیب با کروسین می‌تواند به طور معناداری تغییرات ناشی از القای دوکسوریبسن در سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز را کاهش دهد.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۵ دی ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: ۱۳ تیر ۱۴۰۱

تاریخ انتشار: ۱۰ تیر ۱۴۰۱

کلیدواژه‌ها:

دوکسوریبسن، تمرین تناوبی شدید، کروسین، لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز

* نویسنده مسئول:

دکتر محمد فتحی

نشانی: خرم‌آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی.

تلفن: ۳۹۷۲۰۴۱ (۹۱۶) +۹۸

رایانامه: fathi.m@lu.ac.ir

مقدمه

دوکسوروبیسین^۱ دارویی از خانواده آنتراسایکلین هاست که در کنار دیگر داروهای عضو این خانواده مثل دونوروبیسین، اپیآروبیسیک و ایداروبیسین در درمان طیف وسیعی از بدخیمی‌ها از قبیل لنفوما، لوکمیا و سرطان پستان استفاده می‌شود [۱، ۲]. در کنار اثرات ضدتوموری قوی این دارو، عوارض جانبی از قبیل کم خونی، تهوع و استفراغ، سمیت بافت‌های سالم و غیره هدف از قبیل بافت کبد، کلیه و بهویژه عارضه جانبی اصلی این دارو، یعنی سمیت بافت قلب^۲ باعث شده تا در استفاده موفقیت‌آمیز از این دارو در درمان سرطان‌ها معضلی جدی ایجاد شود [۳].

سازوکار ایجاد سمیت قلبی توسط دوکسوروبیسین با سازوکار اثرات ضدتوموری آن متفاوت بوده و عمدتاً شامل افزایش استرس اکسیداتیو در بافت قلبی است که افزایش تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، تأییدکننده آن است [۱]. علائم سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین شامل کاهش قدرت انقباضی و قدرت پمپاژ قلب، نارسایی احتقانی قلب، کاردیومیوپاتی، اتساع قلب و اختلالات بدون علامت ریتم قلبی است که متأسفانه پیش‌آگهی وضعی داشته و کشنده است [۱].

هنگامی که قلب آسیب می‌بیند نشانگرهای زیستی قلب به جریان خون آزاد می‌شوند [۴]. از بسیاری از آنزیم‌ها برای تشخیص اختلال عملکرد قلب استفاده می‌شود که از بین این آنزیم‌ها، لاکتات دهیدروژناز^۳ و کراتین کیناز^۴ تأییدیه بالینی زیادی به دست آورده‌اند [۵]. نتایج مطالعات مختلفی نشان داده‌اند پس از درمان با دوکسوروبیسین نشانگرهای زیستی قلب در سرم افزایش می‌یابند [۶، ۷].

برای مثال، کونگ اثرات تریق داخل صفاقی دوکسوروبیسین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را بر آنزیم‌های قلبی موش‌های صحرایی آزمایش کرد و نشان داد سطح سرمی لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت [۷]. همچنین شیرین بیان و روشن گزارش کردند القای دوکسوروبیسین موجب افزایش سطح سرمی نشانگرهای زیستی آسیب قلبی، از جمله ایزوآنزیم کراتین کیناز، لاکتات دهیدروژناز، تروپونین^۵، آلانین آمینوترانسفراز^۶ و آسپارات آمینوترانسفراز^۷ در موش‌های صحرایی شد [۸].

تاکنون روش‌های متعددی برای کاهش عوارض جانبی ناشی از سمیت دوکسوروبیسین و حفظ اثرات درمانی آن بر سلول‌های سرطانی

به کار برده شده است، از جمله این روش‌ها محدود کردن دُز تجمعی دارو، کم کردن مصرف آنتراسایکلین‌ها و انجام فعالیت هوازی مداومی است [۳، ۹]. فعالیت بدنی با شدت متوسط، به‌عنوان یکی از راهکارهای محافظتی مناسب می‌تواند قلب را در برابر سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین محافظت کند [۱۰]. برای مثال، کاوازیس و همکاران نشان دادند تمرین هوازی عضلات اسکلتی و قلب را در مقابل عوارض سمیت دوکسوروبیسین با کاهش بیان ژن‌های پیش‌برنده مرگ سلولی محافظت می‌کند [۱۱].

اخیراً شواهد روبه‌رشدی نشان می‌دهد که سازگاری‌های متابولیکی، عضلانی و قلبی‌عروقی در گروه‌های سالم و بیمار وابسته به شدت فعالیت بدنی است و اثرات مفید تمرین تناوبی شدید^۸ با وجود زمان کم و کاهش حجم کل فعالیت، نسبت به تمرین هوازی مداومی در کاهش نشانگرهای خطر التهابی و سنتی، بسیار بیشتر و قابل قبول‌تر است [۱۲، ۱۳].

تمرین تناوبی شدید شکلی از فعالیت است که با شدتی نزدیک به شدت حداکثر یا بیشتر از آن انجام می‌شود و با تناوب‌هایی از استراحت یا فعالیت با شدت کم از هم جدا می‌شود [۱۱]. مشخص شده تمرین تناوبی شدید ضمن ایمن و قابل تحمل بودن برای بیماران سرطانی در طول دوره شیمی‌درمانی باعث بهبود حداکثر اکسیژن مصرفی، تغییرات ضربان قلب و عملکرد جسمانی می‌شود [۱۴].

درمقابل این نتایج مثبت، یافته‌های بعضی پژوهش‌ها نشان داد به‌دنبال فعالیت‌های بدنی شدید، افزایش گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، از جمله مالون‌دی‌آلدئید و نبود تعادل بین فشار اکسایشی و دفاع ضداکسایشی موجب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام می‌شود [۱۵]. دراین زمینه، گولدفارب و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند بعد از یک جلسه تمرین شدید میزان مالون‌دی‌آلدئید پلاسما در هر ۲ گروه مردان و زنان افزایش یافت [۱۶].

همچنین در پژوهشی آگراس و همکاران، روی ورزشکاران حرفه‌ای نشان دادند بعد از ۱۰ روز اجرای تمرین تناوبی شدید، سطح مالون‌دی‌آلدئید افزایش معناداری یافت، ولی تفاوت معناداری در میزان آنتی‌اکسیدان‌های بدن (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز) مشاهده نشد [۱۷].

در کنار اثرات محافظتی فعالیت بدنی در پیشگیری و کنترل بیماری‌ها، نشان داده شده که گیاهان دارویی با خواص بیولوژیکی مختلف به‌دلیل نبود عوارض جانبی، اثرات محافظتی را در برابر سمیت‌های ایجادشده توسط مواد شیمیایی دارند [۱۸]. کروسین از اجزای مؤثر موجود در گیاه زعفران^۹ است که تنها کاروتنوئید آبدوست موجود در طبیعت به‌شمار می‌رود. مطالعات قبلی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی این ترکیب را به‌خوبی نشان داده‌اند [۱۹].

1. Doxorubicin
2. Cardiotoxicity
3. Lactate Dehydrogenase (LDH)
4. Creatine Kinase (CK)
5. cardiac Troponin I I(cTnI)
6. Alanine Amino Transferase (ALT)
7. Aspartate Transaminase (AST)

8. High Intensity Interval Training (HIIT)
9. L-Crocus Sativus

(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 ۲ 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 براساس پروتکل رضایی و همکاران طراحی شد، با توجه به اثرات و عوارض داروی دوکسوربسن بر عملکرد موش‌های صحرایی، شدت آن تعدیل شد [۲۲].

تهیه و نحوه مصرف کروسین: کروسین به شکل پودر آماده در ویال‌های ۱ و ۵ گرمی با درجه خلوص ۹۸ درصد (شرکت سیگمای آمریکا) تهیه شد. گروه دریافت‌کننده مکمل در روزهای تمرین به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن مقدار ۱۰ میلی گرم کروسین حل شده در حجمی معادل ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم نرمال سالیین، به مدت ۸ هفته به صورت خوراکی (گاواژ) دریافت کردند. گروه‌های کنترل سالم و تیمار هم به همان میزان نرمال سالیین به صورت گاواژ دریافت کردند [۲۳].

تهیه و تزریق دوکسوربسن و سالیین: دوکسوربسن از شرکت بلژیکی ایو خریداری شد و سپس برای تهیه دُز موردنظر، ۷ دُز میلی گرم بر کیلوگرم (۲ دُز تجمعی میلی گرم بر کیلوگرم ۱۴) با نرمال سالیین رقیق شد. دوکسوربسن به میزان موردنظر به وسیله سرنگ انسولینی به صورت زیرصفافی ۷ بار و در انتهای هر هفته، از انتهای هفته 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 دوکسوربسن، به منظور یکسان‌سازی شرایط برای همه آزمودنی‌ها و خنثی کردن اثر تزریق، گروه کنترل سالم نیز به همان میزان سالیین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) دریافت کرد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه‌روزی تمام تزریقات همگن و حدود ساعت ۱۰ صبح انجام شد [۲۴].

آنالیز بیوشیمیایی متغیرها (سطوح سرمی آنزیم‌های کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز)

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی، اندازه‌گیری متغیرها انجام شد. رت‌ها با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۹۰ میلی گرم به ازای هر کیلو وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلو وزن بدن) بی‌هوش شده و پس از شکافتن حفره شکمی نمونه خون مستقیماً از بطن چپ موش‌ها گرفته شد و بلافاصله در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن، سرم از پلاسما جدا و برای اندازه‌گیری سطوح لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB در منهای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه، نمونه‌گیری رأس ساعت مشخصی در روز (۹ صبح) انجام شد.

مشخص شد عصاره آبی زعفران و کروسین در پیشگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از ایسکمی ریپرفیوژن جریان خون در موش‌های صحرایی مفید هستند [۲۰]. همچنین مشخص شد کروسین موجود در زعفران، قلب موش‌های صحرایی را در برابر اثرات توکسیک ایزوپروترونول از طریق تعدیل تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند [۲۱]. بنابراین با وجود نتایج متناقض مطالعات انجام‌شده در زمینه تأثیر تمرین تناوبی شدید بر سازگاری‌های فیزیولوژیکی، به خصوص در آزمودنی‌هایی که تحت تأثیر استرس اکسیداتیو قرار گرفته‌اند و نیز کمبود مطالعات انجام‌شده در زمینه بررسی تأثیر ترکیبی تمرینات تناوبی شدید و مکمل کروسین (با در نظر گرفتن خواص مستند آن‌تی‌اکسیدانی کروسین)، بر نشانگرهای سرمی آسیب قلب (لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز قلبی) به عنوان یک راهبرد کمک‌درمانی در طول درمان با دوکسوربسن، انجام مطالعاتی با عنوان تعیین تأثیر تمرین تناوبی شدید و ترکیب تمرین تناوبی شدید و مکمل کروسین بر نشانگرهای سرمی (لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز قلبی) آسیب بافت قلبی ناشی از القای دوکسوربسن ضرورت دارد.

مواد و روش‌ها

در یک کارآزمایی آزمایشی ۳۲ سر رت نروستار با میانگین سنی ۸ هفته و میانگین وزن ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم از مرکز پژوهش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه 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 55 ± 5 درصد با تهویه مناسب و با دسترسی نامحدود به آب و غذا به مدت ۲ هفته قبل از شروع دوره و برای ایجاد سازگاری با محیط جدید قرار گرفتند.

جهت آشنایی و سازگاری با روش انجام فعالیت روی نوار گردان ویژه جوندگان، برنامه تمرین سبک 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 ۲ هفته سازگاری با محیط و نحوه انجام فعالیت، موش‌های صحرایی به روش تصادفی در ۴ گروه، کنترل سالم (سالیین)، دوکسوربسن (کنترل بیمار)، دوکسوربسن و تمرین و دوکسوربسن تمرین تناوبی شدید و کروسین قرار گرفتند.

برنامه تمرینی اصلی به صورت تناوب‌های ۲ دقیقه‌ای شدید و سبک دویدن روی نوارگردان بدون شیب و در ۸ هفته و هر هفته به مدت ۵ روز اجرا شد. موش‌های صحرایی مرحله گرم کردن و سرد کردن را 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 روی نوار گردان انجام دادند. تمرین اصلی شامل انجام ۲ تناوب ۲ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول (۳۲ متر در دقیقه)، ۴ تناوب ۲ دقیقه‌ای با ۸۵ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم (۳۴ متر در دقیقه) و ۶ تناوب ۲ دقیقه‌ای با ۹۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفته سوم

آزمون آنالیز واریانس یک-راهه ($f=22/103$) در ایزوآنزیم کراتین کیناز نشان داد تفاوت معناداری ($P=0/001$) بین گروه‌ها وجود دارد. محل این تفاوت‌ها بین گروه کنترل سالم و دوکسوریبسن ($P=0/001$) و بین گروه‌های آزمایش و آزمایش و کروسین با گروه دوکسوریبسن ($P=0/001$) وجود دارد.

علاوه بر این، مشخص شد هرچند بین تأثیر تمرین تناوبی شدید به تنهایی و ترکیب آزمایش تناوبی شدید و کروسین در کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز تفاوت وجود دارد، اما این میزان تفاوت معنادار نبود (به ترتیب $P=0/087$ و $P=0/877$) (تصویرهای شماره ۱ و ۲).

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد تزریق داروی دوکسوریبسن باعث افزایش سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز در موش‌های صحرایی در مقایسه با گروه کنترل سالم شد. در مقابل، انجام ۸ هفته تمرین تناوبی شدید به تنهایی و نیز همراه با مصرف کروسین توانست در مقایسه با گروه کنترل دوکسوریبسن در سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز در موش‌های صحرایی کاهش معناداری ایجاد کند.

در راستای این نتایج، وارپ و همکاران [۵]، رجب‌پور و همکاران نشان دادند القای دوکسوریبسن باعث افزایش سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز در رت‌های نژاد ویستار شد. دوکسوریبسن به‌طور وسیع و موفقیت‌آمیز در درمان انواع زیادی از سرطان‌ها به کار می‌رود، اما سمیت قلبی ایجادشده توسط دوکسوریبسن در دهه‌های اخیر تبدیل به یکی از نگرانی‌های بزرگ انکولوژیست‌ها شده است. سمیت قلبی القاشده توسط دوکسوریبسن به ۲ صورت حاد و مزمن اتفاق می‌افتد. سمیت حاد به‌ندرت بروز می‌کند و معمولاً بعد از دریافت دُز بالایی از دوکسوریبسن ایجاد می‌شود و موجب تاکی‌کاردی و نارسایی حاد قلبی می‌شود، در حالی که نوع مزمن ممکن است چندین سال بعد از دریافت آخرین دُز دوکسوریبسن در شیمی‌درمانی خود را نشان دهد [۲۷].

از آنجا که در بیشتر بیماران مبتلا به سرطان نشانه‌های سمیت قلبی ۴ تا ۲۰ سال پس از درمان با دوکسوریبسن خود را نشان می‌دهد؛ بنابراین گسترش سمیت قلبی عامل تهدیدکننده حیات در این بیماران به‌شمار می‌رود [۲۸]. سازوکارهایی که در سمیت قلبی ناشی از دوکسوریبسن دخیل هستند، پیچیده و چندعاملی بوده و شامل انواع مرگ سلولی (آپوپتوز، نکروز و اتوفازی)، هایپرتروفی سلولی، تغییر بیان ژن، تغییر حالت ماتریکس خارج سلولی^{۱۲}، اختلال گذر در هومئوستاز کلسیم و تولید استرس اکسیداتیو است [۲۹-۳۲].

سطوح لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی مخصوص و طبق دستورالعمل شرکت سازنده و به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان فعالیت آنزیم کراتین کیناز از کیت ایزوفرم کراتین کیناز MB (پارس آزمون، تهران، ایران) استفاده شد و نتایج به‌صورت واحد بر لیتر (U/L) گزارش شد. ایزوآنزیم کراتین کیناز MB به‌طور اختصاصی برای تشخیص فعالیت آنزیم کراتین کیناز در قلب به کار می‌رود [۲۵]. فعالیت بالای ایزوآنزیم کراتین کیناز MB قابل تشخیص در سرم است. همچنین برای اندازه‌گیری فعالیت لاکتات دهیدروژناز از روش استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان (DGKC) استفاده شد. در این روش فعالیت آنزیم با توجه به میزان تغییر غلظت NADH تعیین می‌شود (فرمول شماره ۱) [۲۶].

1. Lactate+NAD+H+Pyruvate+NADH

آنزیم لاکتات دهیدروژناز با فعالیت NADH^{۱۱} اکسید می‌شود. مقدار کاهش NAD^{۱۱} به NADH در این فرایند نسبت مستقیم دارد که به روش فتومتری قابل اندازه‌گیری است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و آزمون‌های آماری شاپیرو وایک برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌ها، آزمون لوین برای تعیین همگنی واریانس، آزمون تی مستقل جهت بررسی سطح القای دوکسوریبسن و آنالیز واریانس یک-راهه برای تفاوت بین گروه‌ها و آزمون تعقیبی توکی برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها و در سطح آماری $P<0/05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

داده‌های مربوط به میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق به تفکیک گروه در جدول شماره ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد کمترین میزان سطح آنزیم‌های کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز در گروه کنترل سالم و بیشترین میزان آن در گروه کنترل دوکسوریبسن است (جدول شماره ۱).

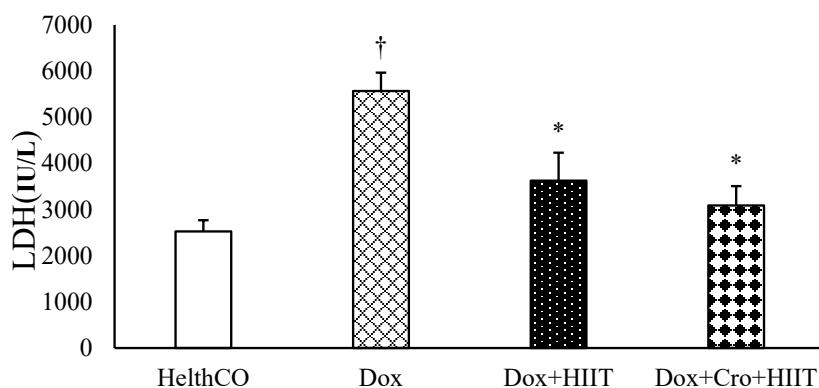
در ادامه، تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد القای دوکسوریبسن باعث افزایش معناداری در میزان سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز گروه دوکسوریبسن (کنترل بیمار) نسبت به گروه کنترل سالم شد ($P=0/001$) (جدول شماره ۲).

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک-راهه ($f=73/86$) در آنزیم لاکتات دهیدروژناز نشان داد تفاوت معناداری ($P=0/001$) بین گروه‌ها وجود دارد و آزمون تعقیبی توکی نشان داد محل این تفاوت‌ها بین گروه کنترل سالم و دوکسوریبسن ($P=0/001$) و گروه کنترل سالم و دوکسوریبسن / آزمایش تناوبی شدید ($P=0/001$) وجود دارد. نتایج

10. Nicotinamide Adenine Dinucleotide+H (NADH)

11. Nicotinamide Adenine Dinucleotide

12. Extracellular matrix (ECM)



تصویر ۱. میانگین سطوح آنزیم لاکتات دهیدروژناز (میکرولیتر) در ۴ گروه تحقیق

تفاوت معنادار بین گروه کنترل سالم و دوکسوریبسن. *تفاوت معنادار بین گروه‌های آزمایش و آزمایش و کروسین با گروه دوکسوریبسن

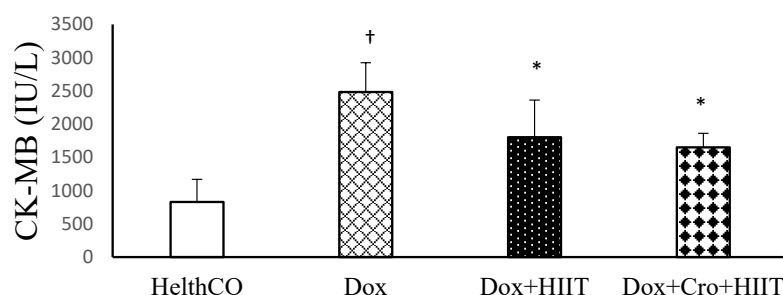
بر کاردیومیوسیت‌ها از افزایش آنزیم‌های آسیب قلبی جلوگیری کند. علاوه بر این، هرچند تفاوت معناداری بین تأثیر آزمایش تناوبی شدید به تنهایی و در ترکیب با کروسین بر سطوح سرمی آنزیم‌های آسیب قلبی وجود نداشت، اما مشخص شد تأثیر تمرین تناوبی شدید در ترکیب با کروسین میل به افزایش دارد.

همسو با نتایج ما، رامز و همکاران نشان دادند تمرین تناوبی شدید با کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز، ایزوآنزیم کراتین کیناز MB و اندازه انفارکتوس از قلب در برابر آسیب ناشی از ایسکمی ریپرفیژون محافظت می‌کند و در مقایسه با آزمایش مداومی، تأثیر آزمایش تناوبی بیشتر بود [۳۷]. همچنین غنیمتی و همکاران نشان دادند پیش‌آماده‌سازی با آزمایش تناوبی شدید باعث شد سطوح سرمی کراتین کیناز، لاکتات دهیدروژناز و تروپونین T پس از سکته قلبی حاد در موش‌های صحرایی نر در مقایسه با گروه کنترل سکته کاهش پیدا کند [۳۸]. بنابراین این احتمال وجود دارد که تمرین تناوبی شدید با ایجاد محافظت قلبی کاردیومیوسیت‌ها در برابر مرگ سلولی ناشی از دوکسوریبسن، باعث کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB شده است.

به نظر می‌رسد در تمام این سازوکارها شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد در اثرات آسیب‌زای دوکسوریبسن نقش داشته باشد [۲۹، ۳۳]. بنابراین منطقی به نظر می‌رسد که استفاده از راهبردهایی مانند فعالیت بدنی و استفاده از مکمل‌های غذایی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی مثل کروسین بتواند با تعدیل استرس اکسیداتیو عوامل دخیل در سمیت قلبی را کاهش دهد.

براساس مطالعات گزارش شده قبلی، فعالیت بدنی به‌طور کلی و تمرین تناوبی به‌طور ویژه به حفظ و ارتقای سلامت، به‌ویژه در پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی کمک می‌کند [۱۳، ۳۴]. به دنبال آسیب میوسیت‌های قلبی، آنزیم‌های متابولیکی قلبی شامل لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB از میوکارد به پلاسما رها شده و افزایش سطوح سرمی لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB مارک‌های مهم آسیب قلبی شناخته می‌شوند [۳۵، ۳۶].

در پژوهش حاضر نیز القای سمیت قلبی با استفاده از داروی دوکسوریبسن باعث افزایش میزان ایزوآنزیم کراتین کیناز MB و لاکتات دهیدروژناز در مقایسه با گروه کنترل سالم شد که بیانگر آسیب سلول‌های قلبی توسط داروی دوکسوریبسن است و درمان با تمرین تناوبی شدید و کروسین در ۲ گروه درمانی توانسته با اثر محافظتی

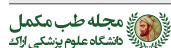


تصویر ۲. میانگین سطوح آنزیم ایزوآنزیم کراتین کیناز (میکرولیتر) در ۴ گروه تحقیق

تفاوت معنادار بین گروه کنترل سالم و دوکسوریبسن. *تفاوت معنادار بین گروه‌های آزمایش و آزمایش و کروسین با گروه دوکسوریبسن

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های ۴ گانه تحقیق

| گروه‌های تحقیق | کراتین کیناز (میکرولیتر) | لاکتات دهیدروژناز (میکرولیتر) |
|---|--------------------------|-------------------------------|
| کنترل سالم (HelthCO) | ۸۲۹/۱۲۵±۳۴۰/۳۳ | ۲۵۲۶/۰۰±۳۴۲/۶۳ |
| کنترل دوکسوریسن (Dox) | ۲۴۸۲/۲۵±۴۴۱/۵۵ | ۵۵۶۹/۷۵±۳۹۶/۱۹ |
| دوکسوریسن و آزمایش (Dox+HIIT) | ۱۸۰۳/۲۵±۵۵۸/۶۶ | ۳۶۲۶/۰۰±۶۰۵/۷۴ |
| دوکسوریسن، کروسین و آزمایش (Dox+Cro+HIIT) | ۱۶۵۰/۷۵±۲۱۱/۱۱ | ۳۰۸۸/۵۰±۴۱۹/۳۶ |



ضد آپوپتوزی Bcl-2 و کاهش بیان ژن پرو آپوپتوزی Bax باعث کاهش آسیب سلول‌های بطن چپ در موش‌های مبتلا به دیابت می‌شود [۴۴].

از آنجا که آپوپتوز در پاتوژنز سمیت قلبی دخیل است و آزمایش تناوبی شدید هم اثرات ضد آپوپتوزی دارد، پس در مطالعه حاضر این احتمال وجود دارد که اثرات ضد آپوپتوزی آزمایش تناوبی شدید نیز می‌تواند در محافظت کاردیومیوسیت‌ها در برابر آسیب ناشی از دوکسوریسن دخالت داشته باشد. هرچند در این مطالعه سازوکارهای دخیل در سمیت قلبی نظیر استرس اکسیداتیو و آپوپتوز بررسی نشدند و این مورد از محدودیت‌های این مطالعه است و می‌تواند به‌عنوان یک پیشنهاد جهت انجام آن در مطالعات آینده مورد توجه قرار گیرد.

فیتوکمیکال‌ها^{۱۵} مولکول‌های کوچک غیر تغذیه‌ای مشتق از گیاهان هستند که در مقابل فرایندهای اکسیدانی و التهابی اثرات محافظتی دارند. کروسین یک کاروتنوئید مشتق از زعفران است که ویژگی‌های آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد آپوپتوزی دارد [۴۵]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد در مقایسه با گروه کنترل دوکسوریسن، کروسین در ترکیب با آزمایش تناوبی شدید باعث کاهش معنادار سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB در موش‌های صحرایی تحت القای دوکسوریسن شد.

همچنین مشخص شد بین تأثیر آزمایش تناوبی شدید و ترکیب آزمایش و کروسین بر سطح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز MB در رت‌های نر نژاد ویستار قرار گرفته در معرض القای دوکسوریسن تفاوت وجود دارد، هرچند این تفاوت

بافت قلب به دلیل تراکم بالای میتوکندری و نیاز به انرژی بیشتر نسبت به بقیه بافت‌ها، حساسیت بیشتری به پراکسیداسیون لیپیدی و القای مرگ برنامه‌ریزی (آپوپتوز) شده ناشی از دوکسوریسن دارد. همچنین کمبود آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مورد نیاز برای سم‌زدایی آنیون‌های دیسموتاز و هیدروژن پراکسیداز در بافت قلب در شرایط عادی باعث تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد شده و در نتیجه موجب پراکسیداسیون لیپید، تخریب گسترده غشا، شبکه آندوپلاسمیک و اسیدنوکلئیک میتوکندری می‌شود [۳۹].

علاوه بر این، مشخص شده آنتی اکسیدان‌های درون‌زاد عضله قلبی در سمیت قلبی ناشی از دوکسوریسن کاهش می‌یابند [۴۰]. فتاحی باقی و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند سطوح فعالیت آنزیم‌های SOD^{۱۳} و CAT^{۱۴} در رت‌های دیابتی به دنبال ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف کروکومین به‌طور معناداری افزایش یافت [۴۱]. بنابراین احتمال دارد در مطالعه ما نیز آزمایش تناوبی شدید از طریق تنظیم مثبت آنزیم‌های ضد اکسایشی و افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT به‌عنوان اولین سد دفاعی بدن در برابر آسیب اکسیداتیو، از آسیب به بافت قلب جلوگیری کرده و علائم سمیت قلبی را کاهش داده است.

سازوکار دیگری که در آسیب‌زایی سمیت قلبی نقش دارد، مرگ سلولی یا آپوپتوز است. مطالعات زیادی نشان دادند القای آپوپتوز توسط دوکسوریسن از هر دو مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز انجام می‌شود. در مسیر داخلی دوکسوریسن با افزایش بیان پروتئین‌هایی نظیر Bax باعث فعال شدن مسیر داخلی آپوپتوز می‌شود [۴۲، ۴۳]. از طرفی نشان داده شده که آزمایش تناوبی شدید با افزایش بیان ژن

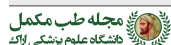
13. Superoxide Dismutase

14. Catalase

15. Phytochemicals

جدول ۲. اثرات القای دوکسوریسن بر سطوح متغیرها در ۲ گروه کنترل و دوکسوریسن

| متغیر | t | df | P |
|-------------------|---------|----|---------|
| کراتین کیناز | -۸/۳۸۷ | ۱۴ | **/.۰۰۱ |
| لاکتات دهیدروژناز | -۱۸/۵۳۰ | ۱۴ | **/.۰۰۱ |



** نشان‌دهنده تفاوت معنادار در سطح $P \leq 0.01$

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی مشخص شد تزریق دوکسوریپسن موجب افزایش سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز در موش‌های صحرایی در معرض القای دوکسوریپسن شد و با توجه به داده‌های به‌دست‌آمده مشخص شد آزمایش تناوبی شدید به‌تنهایی و نیز آزمایش تناوبی شدید در ترکیب با کروسین در مقایسه با گروه کنترل دوکسوریپسن به‌طور معناداری تغییرات ناشی از القای دوکسوریپسن در سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز را کاهش دهد. همچنین بین تأثیر آزمایش تناوبی شدید به‌تنهایی و تأثیر آزمایش تناوبی شدید در ترکیب با کروسین بر سطوح سرمی آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و ایزوآنزیم کراتین کیناز نتایج قرار گرفته در معرض القای دوکسوریپسن تفاوت معناداری یافت نشد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

مقاله حاضر با کد اخلاق IR.LUMS.REC.1399.221 برگرفته از پایان‌نامه نویسنده اول دانشجوی دوره کارشناسی ارشد، گرایش فیزیولوژی ورزش در گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشکده علوم انسانی دانشگاه لرستان است.

حامی مالی

این مقاله حاصل کار پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد رشته تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه لرستان بوده است. معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان حامی این پژوهش بوده است.

مشارکت‌نویسندگان

همه نویسندگان در نگارش این مقاله سهم یکسانی داشتند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نظر نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

ضمن تشکر از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان از همه کسانی که در این پژوهش مشارکت داشتند تشکر و قدردانی می‌شود.

به‌لحاظ آماری معنادار نبود. همان‌طور که قبلاً اشاره شد به‌خوبی مشخص شده که ROS بخش مهمی از سازوکار سمیت قلبی ناشی از دوکسوریپسن است. استرس اکسیداتیو ناشی از دوکسوریپسن به‌علت تولید بیش‌ازحد ROS یکی از دلایل اصلی آسیب میوکارد است [۳۳].

وقتی غشای سلول قلبی آسیب ببیند، آنزیم‌های خاص سیتوپلاسم میوکارد مانند لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، AST و ALT از سلول خارج می‌شوند و میزان خروج این آنزیم‌ها با درجه آسیب میوکارد متناسب است. افزایش فعالیت این آنزیم‌های نشانگر قلب، نشان‌دهنده آسیب سلولی و از بین رفتن یکپارچگی عملکردی و یا نفوذپذیری غشای سلول است [۴۶].

همسو با نتایج پژوهش حاضر، الشربینی و همکاران نشان دادند مصرف وابسته به دُز کروسین باعث کاهش استرس اکسیداتیو، افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش آپوپتوزیس بافت قلبی ناشی از تزریق دوکسوریپسن می‌شود [۲۳]. همچنین شکرریز و همکاران نشان دادند ۸ هفته مصرف کروسین و ترکیب آزمایش تناوبی شدید و کروسین شاخص استرس اکسیداتیو (مالون‌دی‌آلدئید) بافت قلب رت‌های در معرض القای دوکسوریپسن را کاهش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز) را افزایش داد [۴۷].

با توجه به اینکه اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدآپوپتوزی و ضدالتهابی برای کروسین گزارش شده است [۴۵]؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد به‌واسطه یک یا ترکیبی از اثرات فوق بتواند از سمیت دوکسوریپسن جلوگیری کند، میوسیت‌ها کمتر تخریب شده و آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و CK کمتر از سلول خارج شده و به‌تبع آن سطوح سرمی آن‌ها کاهش یابد. پژوهش‌های قبلی پیشنهاد می‌کنند که کروسین بیان آنتی‌اکسیدان هم‌هیدروژناز (HO-1) را از طریق تعدیل کلسیم کالمودولین القا می‌کند و مسیر آنتی‌اکسیدانی Nrf2/HO-1 را فعال می‌کند.

همچنین نشان داده شد کروسین استرس اکسیداتیو ناشی از دوکسوریپسن را کاهش می‌دهد، مهار سیستم آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد ناشی از دوکسوریپسن را از بین برده، افزایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی ناشی از دوکسوریپسن و کاهش سایتوکاین‌های ضدالتهابی ناشی از دوکسوریپسن را مهار می‌کند [۲۳]. همچنین به‌نظر می‌رسد که کروسین در سلول‌های مختلف با رادیکال‌های آزاد و همچنین مواد واسطه اکسیدان واکنش داده و به این ترتیب با متوقف کردن واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد از غشای سلول محافظت می‌کند [۴۸].

به نظر می‌رسد دلیل اینکه تأثیر مصرف کروسین در ترکیب با آزمایش تناوبی شدید در مقایسه با تأثیر تمرین به‌تنهایی معنادار نبوده این است که آزمایش تناوبی شدید به‌تنهایی توانسته نهایت تأثیر محافظتی ممکن را در جهت خنثی کردن اثرات مخرب دوکسوریپسن اعمال کند؛ بنابراین امکان تأثیر بیشتر با این دُز از کروسین و آزمایش استفاده‌شده در مطالعه حاضر وجود نداشته است.



References

- [1] Abdullah CS, Alam S, Aishwarya R, Miriyala S, Bhuiyan MAN, Panchatcharam M, et al. Doxorubicin-induced cardiomyopathy associated with inhibition of autophagic degradation process and defects in mitochondrial respiration. *Scientific Reports*. 2019; 9(1):2002. [DOI:10.1038/s41598-018-37862-3] [PMID] [PMCID]
- [2] Popov A, Klimovich A, Styshova O, Tsybulsky A, Hushpulan D, Osipants A, et al. Probable mechanisms of Doxorubicin antitumor activity enhancement by ginsenoside Rh2. *Molecules*. 2022; 27(3):628. [DOI:10.3390/molecules27030628] [PMID] [PMCID]
- [3] Lee Y, Kwon I, Jang Y, Cosio-Lima L, Barrington P. Endurance exercise attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2020; 52(1):25-36. [DOI:10.1249/MSS.0000000000002094] [PMID]
- [4] Cao L, Zhu W, Wagar EA, Meng QH. Biomarkers for monitoring chemotherapy-induced cardiotoxicity. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2017; 54(2):87-101. [DOI:10.1080/10408363.2016.1261270] [PMID]
- [5] Alkuraisy HM, Al-Gareeb AI, Al-hussaniy HA. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: Molecular mechanism and protection by conventional drugs and natural products. *International Journal of Clinical Oncology and Cancer Research*. 2017; 2(2):31-44. [Link]
- [6] Środa-Pomianek K, Michalak K, Świątek P, Pola A, Palko-Łabuz A, Wesołowska O. Increased lipid peroxidation, apoptosis and selective cytotoxicity in colon cancer cell line Iovo and its doxorubicin-resistant subline Iovo/dx in the presence of newly synthesized phenothiazine derivatives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 106:624-36. [DOI:10.1016/j.biopha.2018.06.170] [PMID]
- [7] Kong CY, Guo Z, Song P, Zhang X, Yuan YP, Teng T, et al. Underlying the mechanisms of Doxorubicin-induced acute cardiotoxicity: Oxidative stress and cell death. *International Journal of Biological Sciences*. 2022; 18(2):760-70. [DOI:10.7150/ijbs.65258] [PMID] [PMCID]
- [8] Shirinbayan V, Roshan VD. Pretreatment effect of running exercise on HSP 70 and Dox-induced cardiotoxicity. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2012; 13(11):5849-55. [DOI:10.7314/APJCP.2012.13.11.5849] [PMID]
- [9] Soliman H, Ahmed RR, Gomaa HA, Ali AT. Assessment of the chemopreventive effects of various plant constituents against doxorubicin-induced toxicity in rats. *Journal of American Science*. 2014; 10(9):153-64. [Link]
- [10] Moradi M, Shakerian S, Nikbakht M. [The effect of eight weeks high intensity interval training and Crocin consumption on oxidative stress of liver tissue in male rats subjected to chronic Doxorubicin injection (Persian)]. *Feyz* 2019; 23(5):485-94. [Link]
- [11] Kavazis AN, Smuder AJ, Powers SK. Effects of short-term endurance exercise training on acute doxorubicin-induced FoxO transcription in cardiac and skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2014; 117(3):223-30. [DOI:10.1152/japplphysiol.00210.2014] [PMID] [PMCID]
- [12] Ramos JS, Dalleck LC, Tjonna AE, Beetham KS, Coombes JS. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: A systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*. 2015; 45(5):679-92. [DOI:10.1007/s40279-015-0321-z] [PMID]
- [13] MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *The Journal of Physiology*. 2017; 595(9):2915-30. [DOI:10.1113/JP273196] [PMID] [PMCID]
- [14] Freitag N, Weber PD, Sanders TC, Schulz H, Bloch W, Schumann M. High-intensity interval training and hyperoxia during chemotherapy: A case report about the feasibility, safety and physical functioning in a colorectal cancer patient. *Medicine*. 2018; 97(24):e11068. [DOI:10.1097/MD.00000000000011068] [PMID] [PMCID]
- [15] Indu R, Azhar T, Nair A, Nair CKK. Amelioration of Doxorubicin induced cardio-and hepato-toxicity by carotenoids. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2014; 10(1):62. [DOI:10.4103/0973-1482.131370] [PMID]
- [16] Goldfarb AH, McKenzie MJ, Bloomer RJ. Gender comparisons of exercise-induced oxidative stress: Influence of antioxidant supplementation. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2007; 32(6):1124-31. [DOI:10.1139/H07-078] [PMID]
- [17] Ugras AF. Effect of high intensity interval training on elite athletes' antioxidant status. *Science & Sports*. 2013; 28(5):253-9. [DOI:10.1016/j.scispo.2012.04.009]
- [18] Orazizadeh M, Khorsandi L, Absalan F, Hashemitabar M, Daneshi E. Effect of beta-carotene on titanium oxide nanoparticles-induced testicular toxicity in mice. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2014; 31(5):561-8. [DOI:10.1007/s10815-014-0184-5] [PMID] [PMCID]
- [19] Ordoudi SA, Tsimidou MZ. Measuring antioxidant and prooxidant capacity using the Crocin bleaching assay (CBA). In: Armstrong D, editor. *Advanced protocols in oxidative stress iii. Methods in molecular biology*. New York: Humana Press; 2015. [DOI:10.1007/978-1-4939-1441-8_24] [PMID]
- [20] Salem M, Shaheen M, Tabbara A, Borjac J. Saffron extract and Crocin exert anti-inflammatory and anti-oxidative effects in a repetitive mild traumatic brain injury mouse model. *Scientific Reports*. 2022; 12(1):5004. [DOI:10.1038/s41598-022-09109-9] [PMID] [PMCID]
- [21] Goyal S, Arora S, Sharma A, Joshi S, Ray R, Bhatia J, et al. 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. [DOI:10.1016/j.phymed.2009.08.009] [PMID]
- [22] Rezaei R, Nurshahi M, Bigdeli M, Khodagoli F, Haghighparast A. [Effect of eight weeks of continuous and periodic aerobic training on VEGF-A and VEGFR-2 levels of male brain Wistar rats (Persian)]. *Journal of Physiology of Sport and Physical Activity*. 2015; 16:1213-21. [Link]
- [23] 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 apoptotic pathways. *Chemico-Biological Interactions*. 2016; 247:39-48. [DOI:10.1016/j.cbi.2016.01.014] [PMID]
- [24] Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Balça M, Moreira P, Oliveira P, Magalhães J, et al. Physical exercise mitigates doxorubicin-induced brain cortex and cerebellum mitochondrial alterations and cellular quality control signaling. *Mitochondrion*. 2016; 26:43-57. [DOI:10.1016/j.mito.2015.12.002] [PMID]
- [25] Malekinejad H, Ahsan S, Delkhosh-Kasmaie F, Cheraghi H, Rezaei-Golmishah A, Janbaz-Acyabar H. Cardioprotective effect of royal jelly on paclitaxel-induced cardio-toxicity in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2016; 19(2):221-7. [PMID] [PMCID]
- [26] Pesce A, Fondy TP, Stolzenbach F, Castillo F, Kaplan NO. The comparative enzymology of lactic dehydrogenases III. Properties of the H4 and M4 enzymes from a number of vertebrates. *Journal of Biological Chemistry*. 1967; 242(9):2151-67. [DOI:10.1016/S0021-9258(18)96030-8]



- [27] Wallace KB. Doxorubicin-induced cardiac mitochondrionopathy. *Pharmacology & Toxicology*. 2003; 93(3):105-15. [DOI:10.1034/j.1600-0773.2003.930301.x] [PMID]
- [28] Singal P, Li T, Kumar D, Danelisen I, Iliskovic N. Adriamycin-induced heart failure: Mechanisms and modulation. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2000; 207(1):77-86. [DOI:10.1023/A:1007094214460] [PMID]
- [29] Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: Molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews*. 2004; 56(2):185-229. [DOI:10.1124/pr.56.2.6] [PMID]
- [30] Rawat PS, Jaiswal A, Khurana A, Bhatti JS, Navik U. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021; 139:111708. [DOI:10.1016/j.biopha.2021.111708] [PMID]
- [31] Perego P, Corna E, Cesare MD, Gatti L, Polizzi D, Pratesi G, et al. Role of apoptosis and apoptosis-related genes in cellular response and antitumor efficacy of anthracyclines. *Current Medicinal Chemistry*. 2001; 8(1):31-7. [DOI:10.2174/0929867013373994] [PMID]
- [32] 32. Vejpongsa P, Yeh ET. Prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity: Challenges and opportunities. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014; 64(9):938-45. [DOI:10.1016/j.jacc.2014.06.1167] [PMID]
- [33] Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, Correia S, Oliveira PJ, Santos MS, et al. Doxorubicin: The good, the bad and the ugly effect. *Current Medicinal Chemistry*. 2009; 16(25):3267-85. [DOI:10.2174/092986709788803312] [PMID]
- [34] Rahmani Ghobadi M. [The relationship of physical activity and risk factors of coronary heart disease (CHD) in older men (Persian)]. *Salmand: Iranian Journal of Ageing*. 2015; 9(4):316-23. [Link]
- [35] Patel IB, Atar MA, Ali SA. Punica granatum peel extract ameliorates Doxorubicin induced cardiotoxicity. *Analytical Chemistry Letters*. 2019; 9(6):835-44. [DOI:10.1080/22297928.2019.1708789]
- [36] Rakhshan K, Aboutaleb N, Nikbakht F, Bakhshesh M, Azizi Y. [Apigenin improves myocardial function and attenuates cardiotoxicity induced by Doxorubicin in male rats (Persian)]. *Yafteh*. 2018; 20(1):85-98. [Link]
- [37] Ramez M, Rajabi H, Ramezani F, Naderi N, Darbandi-Azar A, Nasirinezhad F. The greater effect of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury through Klotho levels and attenuate of myocardial TRPC6 expression. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2019; 19:118. [DOI:10.1186/s12872-019-1090-7] [PMID] [PMCID]
- [38] Ghanimati R, Rajabi H, Ramezani F, Ramez M, Bapiran M, Nasirinezhad F. The effect of preconditioning with high-intensity training on tissue levels of G-CSF, its receptor and C-kit after an acute myocardial infarction in male rats. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2020; 20(1):1-9. [DOI:10.1186/s12872-020-01380-w] [PMID] [PMCID]
- [39] Shakir DK, Rasul KI. Chemotherapy induced cardiomyopathy: Pathogenesis, monitoring and management. *Journal of Clinical Medicine Research*. 2009; 1(1):8. [DOI:10.4021/jocmr2009.02.1225]
- [40] Khanmohammadi R, Azarbaijani MA, Piri M, Khorsandi L. [The effect of high intensity training and Crocin on oxidative stress in male rats subjected to Doxorubicin induction (Persian)]. *Armaghan-e-Danesh*. 2019; 23(6):694-708. [Link]
- [41] Fattahi Bafghi A, Homaee HM, Azarbayjani MA. Effects of high intensity interval training and curcumin supplement on antioxidant enzyme in heart tissue of diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity*. 2016; 8(3):135-41. [Link]
- [42] Tsutsui H, Ide T, Kinugawa S. Mitochondrial oxidative stress, DNA damage, and heart failure. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2006; 8(9-10):1737-44. [DOI:10.1089/ars.2006.8.1737] [PMID]
- [43] Liu X, Chua CC, Gao J, Chen Z, Landy CL, Hamdy R, et al. Pifithrin- α protects against doxorubicin-induced apoptosis and acute cardiotoxicity in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2004; 286(3):H933-9. [DOI:10.1152/ajpheart.00759.2003] [PMID]
- [44] Safar Nezhad A, Peeri M, Matin Homaee H. [Effect of high intensity interval training and continuous training on the gene expression of Bcl2, Bax and P-53 protein in the left ventricle type 2 diabetes of male rats (Persian)]. *Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences*. 2021; 63(5). [DOI:10.22038/mjms.2021.17582]
- [45] Abushouk AI, Ismail A, Salem AMA, Afifi AM, Abdel-Daim MM. Cardioprotective mechanisms of phytochemicals against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017; 90:935-46. [DOI:10.1016/j.biopha.2017.04.033] [PMID]
- [46] Guo Z, Yan M, Chen L, Fang P, Li Z, Wan Z, et al. Nrf2-dependent antioxidant response mediated the protective effect of tanshinone IIA on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2018; 16(4):3333-44. [DOI:10.3892/etm.2018.6614] [PMID] [PMCID]
- [47] Shekarriz H, Galedari M, Khorsandi L, Nikbakht M. [Protective effects of aerobic training and Crocin on Doxorubicin induced heart tissue oxidative stress in male rats (Persian)]. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2020; 15(2):11-20. [Link]
- [48] Kaffashi Elahi R, Mohajeri D. [Experimental study on protective effects of Crocin on nephropathy induced by complete unilateral ureteral obstruction in the rats (Persian)]. *Journal of Comparative Pathobiology*. 2016; 12(4):1769-82. [Link]