

## Investigate the combination effect of Troxerotin and high-intensity interval training on expression of mitophagy genes Mfn2 and Parkin and Doxorubicin-induced cardiotoxicity in rat cardiac cells

Taghavi-Holagh A<sup>1</sup>, Abed-Natanzi H<sup>2\*</sup>, Badalzadeh R<sup>3</sup>, Ghazalian F<sup>2</sup>

1- Department of Physical Education and Sports Science, Jolfa Branch, Islamic Azad University, Jolfa, I.R. Iran.

2- Department of Physical Education and Sports Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

3- Molecular Medicine Research Center and Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I.R. Iran.

Received: 2022/07/21 | Accepted: 2022/12/5

### Abstract:

**Background:** Doxorubicin (DOX) is an effective drug in the treatment of various cancers whose usage has been limited due to the cardiac toxicity. The present study aimed to investigate the combination effect of troxerutin (TRX; It is derived from the flavonoid rutin and has pharmacological properties) and high-intensity interval training (HIIT) on DOX-induced cardiotoxicity and expression of mitophagy genes Mfn2 and Parkin in rat cardiac cells.

**Materials and Methods:** Male Wistar rats were randomly divided into five groups ( $n = 10$ ): 1) Control, 2) DOX, 3) HIIT + DOX, 4) TRX + DOX, and 5) HIIT + TRX + DOX. After the last session of HIIT, the trained and time-matched control rats were injected with DOX (20 mg/kg, ip). To confirm the induction of doxorubicin cardiotoxicity, it was shown that DOX injection increased serum level of lactate dehydrogenase from  $57 \pm 3$  U/l to  $171 \pm 6$  U/l. The expression of mitophagy genes including Mfn2 and Parkin was measured by Real-Time PCR.

**Results:** DOX injection decreased the expression of mitophagy genes Mfn2 and Parkin ( $P < 0.01$ ). The combined effect of HIIT exercise and troxerutin consumption led to a significant increase in the expression of mitophagy genes Mfn2 ( $P < 0.05$ ) and Parkin ( $P < 0.01$ ) compared to the DOX group.

**Conclusion:** The combined application of HIIT exercise and troxerutin can increase the expression of mitophagy genes Mfn2 and Parkin in cardiac cells of DOX-receiving rats and reduce DOX-induced cardiac toxicity.

**Keywords:** Doxorubicin, High-intensity interval training, Troxerutin, Cardiac Toxicity, Mitophagy

### \*Corresponding Author

Email: abednazari@gmail.com

Tel: 0098 912 610 7064

Fax: 0098 214 486 5179

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, January, 2023; Vol. 27, No 6, Pages 676-682

Please cite this article as: Taghavi-Holagh A, Abed-Natanzi H, Badalzadeh R, Ghazalian F. Investigate the combination effect of Troxerotin and high-intensity interval training on expression of mitophagy genes Mfn2 and Parkin and Doxorubicin-induced cardiotoxicity in rat cardiac cells. Feyz 2023; 27(6): 676-82.

# بررسی تأثیر توأم تروگزروتین و ورزش تناوبی شدید در بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و سمیت قلبی ناشی از دوکسوروپیسین در سلول‌های قلبی رت Parkin

ابوالقاسم تقی هلق<sup>۱</sup>، حسین عابد نظری<sup>۲</sup>، رضا بدلهاده<sup>۳</sup>، فرشاد غزالیان<sup>۴</sup>

## خلاصه:

سابقه و هدف: دوکسوروپیسین (DOX)، داروی مؤثر در درمان انواع سرطان است که کاربرد آن بهدلیل سمیت قلبی ناشی از دوز تجمعی، محدود شده است. هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر توأم تروگزروتین (TRX؛ مشتق از فلاونونید روتین و دارای خواص فارماکولوژیکی مختلف) و تمرین تناوبی شدید (HIIT) در کاهش سمیت قلبی ناشی از DOX و بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و Parkin در سلول‌های قلبی رت‌ها است.

مواد و روش‌ها: رت‌های ویستار نر به صورت تصادفی در پنج گروه (n = 10) تقسیم شدند: ۱) Control, DOX (۳)، DOX+DOX (۴)، HIIT+DOX (۵)، TRX+DOX (۶)، HIIT+TRX+DOX (۷). پس از آخرین تمرین HIIT، رت‌های تمرین کرده و گروه کنترل مربوطه تحت تزریق داخل صفاقی DOX با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار گرفتند. برای تأیید آسیب قلبی ناشی از دوکسوروپیسین نشان داده شد که تزریق DOX میزان لاتکتات دهیدروژنаз سرم رت‌ها را از  $171 \pm 3$  تا  $57 \pm 3$  واحد در لیتر افزایش داده است. میزان بیان ژن‌های میتوفاژی شامل Mfn2 و Parkin با روش Real-Time PCR با روشنگیری شد.

نتایج: تزریق DOX میزان بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و Parkin را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد ( $P < 0.01$ ). تأثیر توأم تمرین HIIT و مصرف تروگزروتین، به افزایش معنی‌دار میزان بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 (P < 0.05) و Parkin (P < 0.01) نسبت به گروه DOX منجر شد.

نتیجه‌گیری: کاربرد توأم تروگزروتین و تمرین HIIT می‌تواند بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و Parkin را در سلول‌های قلبی رت‌ها دریافت‌کننده DOX افزایش و سمیت قلبی ناشی از DOX را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: دوکسوروپیسین، تمرین تناوبی شدید، تروگزروتین، سمیت قلبی، میتوفاژی

دومان‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۶، بهمن - اسفند ۱۴۰۱، صفحات ۶۸۲-۶۷۶

## مقدمه

میتوکندری معمیوب به وسیله میتوفاژی حذف می‌شود. میتوفاژی یک نقش حیاتی در بقای سلول‌های قلبی در شرایط مختلف استرس سلولی ایفاء می‌کند [۱]. ژن‌های Mfn2، Parkin، P62 و DRP1 این را کاهش می‌نمایند [۲]. میتوکندریایی، شامل Mfn2 و OPA1 در DRP1 [۳] به وسیله ورزش مزمن در طی دوره درمان با دوکسوروپیسین، نشان داده است که ورزش در تنظیم مناسب دینامیک‌های میتوکندریایی اصلی که برای حیات سلولی ضروری هستند، مشارکت دارد. تمرینات اختیاری و ورزش استقامتی اجباری، باعث تعديل آپوپتوز و میتوفاژی در قلب موش‌های درمان شده با دوکسوروپیسین می‌شود [۴]. به طور مشابه، ممکن است پیش‌شرطی‌سازی با ورزش در مقابل فعال‌سازی اتوفاژی قلبی و مسیر دستگاه لیزوژومی ناشی از دوکسوروپیسین، نقش داشته باشد [۵]. تمرینات HIIT (High intensity interval training) به عنوان فواصل کوتاه فعالیت شدید که با دوره‌های فعالیت کم یا استراحت از هم جدا شده است، تعریف می‌شود که پاسخ‌های

دوکسوروپیسین (DOX؛ Doxorubicin)، دارویی مؤثر در درمان انواع سرطان‌ها مثل سرطان سینه، تحمدان، غدد لنف و مغز استخوان است که از خانواده آنتراسیکلین می‌باشد [۶]. این دارو از لحاظ کاربرد، بهدلیل عوارض جانبی شدید مربوط به دوز تجمعی آن، بهخصوص سمیت قلبی که به اختلال عملکرد بطن چپ، کارديوميوباتی گشادشده و نارسایی می‌گردد، دارای محدودیت است [۷]. روش‌های ایجاد عوارض قلبی مصرف دوکسوروپیسین شامل تغییرات در فرآیندهای سلولی، آپوپتوز، اتوفاژی و اختلال عملکرد میتوکندری می‌باشد [۸].

۱. استادیار، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد جلفا، دانشگاه آزاد اسلامی، جلفا، ایران  
۲. استادیار، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳. استاد، مرکز تحقیقات پژوهشی مولکولی و مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
۴. استادیار، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\***لشانی نویسنده مسئول**، تهران، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی  
تلفن: ۰۹۱۲۶۱۰۷۰۶۴، دارلوجیس: ۰۲۱۴۴۸۶۵۱۷۹

پست الکترونیک: abednazari@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۹/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۳۰

آزمایشگاهی است. در این طرح، ۵۰ سر رت از حیوانکده مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شد و در دمای محیط کنترل شده  $21\pm 2$  درجه سانتی گراد، در چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، با دسترسی آزاد به غذا و آب در حیوانخانه نگهداری گردید. موش‌ها در پنج گروه ( $n=10$ ) برای آزمایش‌های مربوطه به صورت تصادفی گروه‌بندی شدند. گروه (HIIT+DOX)، Control (بی تحرک-سالین)، گروه DOX، گروه (HIIT+TRX+DOX)، گروه (DOX+TRX) و گروه (HIIT+TRX) از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه شدند. باید گفت که تمام روش‌های رفتار با حیوان براساس معیارهای اخلاقی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری بود.

پروتکل ورزش HIIT: در ابتدا موش‌های مربوط به گروه‌های فعالیت ورزشی بهمنظر آشناشدن با فعالیت ورزشی بهمدت یک هفته در نوارگردان حیوانی با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بهمدت ۱۵ دقیقه تمرین کردند. سپس در ابتدای هر دو هفته میزان  $VO_{2\max}$  حیوانات مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به دسترسی نداشتن به ابزار مستقیم مانند دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی و نیز پژوهش‌های اخیر [۱۹،۱۸]، پروتکل غیرمستقیمی با دقت زیاد در ابتداء آزمون و استفاده شد؛ به طوری که بعد از ۲۰ - ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰٪  $VO_{2\max}$ ، سرعت نوارگردان هر دو دقیقه یکبار به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر بر دقیقه) افزایش داده می‌شد تا حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. ملاک رسیدن به عدم توانایی رت‌ها در ادامه دادن پروتکل تمرینی با افزایش سرعت بود [۲۰]. تمرینات ورزشی براساس تحقیقات قبلی [۱۲،۱۰]، بر روی نوارگردان برای ۵ روز در هفته بهمدت ۶۰ دقیقه و در طول ۸ هفته انجام شد که شامل سه مرحله می‌باشد: (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- پروتکل تمرینی HIIT

۱:	۶ دقیقه گرم کردن با شدت ۵۰ الی ۵۵٪ $VO_{2\max}$
۲:	۷ سنت پی در بی ۴ دقیقه با ۸۰ الی ۹۰٪ $VO_{2\max}$ که با دوره‌های ۳ دقیقه‌ای با شدت ۶۵ الی ۷۵٪ $VO_{2\max}$ از هم جدا شده‌اند.
۳:	۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۵۰ الی ۵۵٪ $VO_{2\max}$

بدن، به صورت داخل صفاقی) به موش‌های صحرایی تزریق شد [۲۱]. برای تأیید القاء سمتی قلبی ناشی از DOX در رت‌ها، سطح آنزیم لاكتات دهیدروژنаз سرم در گروه‌های دریافت‌کننده DOX و کنترل به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. این اندازه‌گیری نشان داد که تزریق DOX باعث افزایش معنی‌دار سطح آنزیم LDH در گروه DOX نسبت به گروه کنترل از  $171\pm 3$  تا  $57\pm 3$  واحد در لیتر شد

فیزیولوژیکی حاد را ایجاد می‌کند [۱۰]. بیان شده است که فعالیت ورزشی HIIT نسبت به فعالیت استقامتی رایج باعث فراخوانی بیشتر سیگنال متابولیک AMPK می‌شود که با بیان بیشتر PGC-1α به عنوان تنظیم‌کننده اصلی بیوژن میتوکندری، مطرح است [۱۱]. احتمالاً فعالیت ورزشی HIIT می‌تواند گزینه بهتری در کاهش اختلال متابولیسم انرژی ناشی از دوکسورووبیسین نسبت به فعالیت ورزشی استقامتی رایج باشد [۱۲]. تروگزروتین (TRX) که به عنوان ویتامین P4 شناخته شده است، یک مشتق تری‌هیدروکسی اتیله‌شده از روتین بیوفلافونوئیدهای طبیعی است [۱۳] که دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع نظیر اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهاب، آنتی‌نفوکلستریک و ضدآسیب DNA است [۱۴] و مدت‌ها برای درمان بعضی بیماری‌های قلبی - عروقی استفاده شده است [۱۵]. محققان پژوهش حاضر، قبلاً نشان داده‌اند که هشت هفته فعالیت ورزشی HIIT و مصرف تروگزروتین قبل از القای DOX، دارای اثرات محافظت قلبی می‌باشد و باعث بهبود عملکرد میتوکندری [۱۶] و نیز افزایش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی [۱۷] در سلول‌های قلبی رت‌ها می‌شود. همچنین در این مطالعه به دنبال بررسی بیشتر مکانیسم‌های محافظت قلبی این درمان ترکیبی و بررسی دخالت احتمالی میتوفاژی، در این پدیده بودند. بنابراین هدف این پژوهش، بررسی تأثیر توأم ورزش HIIT و تروگزروتین بر آسیب قلبی و بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و Parkin در سمیت قلبی ناشی از دوکسورووبیسین در رت می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش با کد اخلاقی IR.SSRI.REC.1398.669 مورد تأیید واقع شده است.

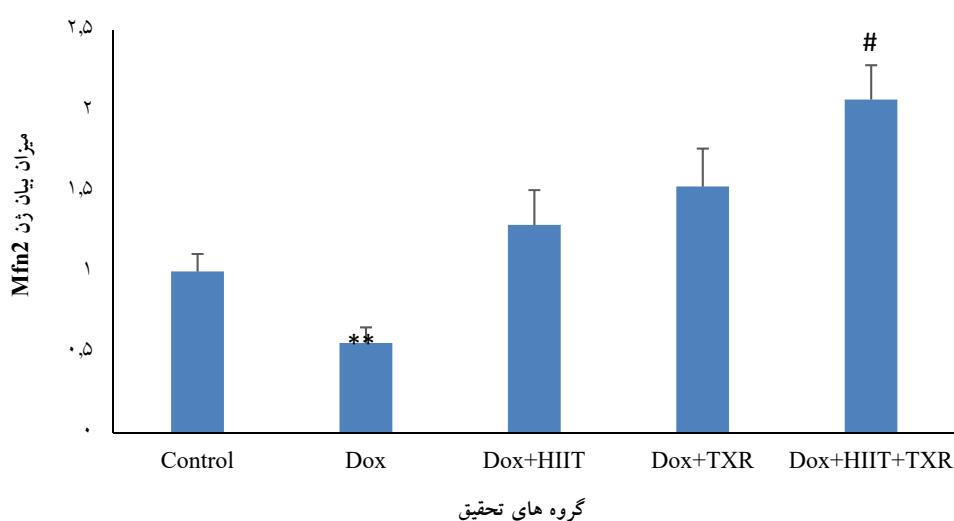
حیوانات و گروه‌بندی: این تحقیق از نوع تحقیق تجربی یا

تجویز داروها و پروتکل مطالعه: در گروه‌های دریافت‌کننده TRX، تروگزروتین با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بهازای کیلوگرم وزن بدن حیوان و از طریق گاواظ خوراکی، یکبار در روز، بهمدت دو ماه تجویز شد [۱۲]. در گروه‌های دریافت‌کننده DOX، شش ساعت پس از آخرین جلسه فعالیت ورزشی HIIT و یا تجویز تروگزروتین، دوکسورووبیسین هیدروکلرايد (با دوز ۲۰ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن

از تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS انجام شد. آزمون شاپیرو - ویلک برای بررسی نرمال بودن داده ها به کار رفت. سپس برای تعیین هرگونه تفاوت بین گروه ها، آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید ( $\alpha < 0.05$ ). برای تمامی موارد تفاوت بین گروهی  $P$  کمتر از پنج صدم ( $P < 0.05$ ) معنی دار تلقی شد.

#### نتایج

در این تحقیق پس از ایجاد سمیت قلبی با تزریق DOX و کاهش آن با مداخلات درمانی، برای پی بردن به مکانیسم های اثرات مثبت مداخلات درمانی، میزان بیان ژن های میتوفاژی اندازه گیری شد. برطبق نتایج بدست آمده از این تحقیق که در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است، تزریق DOX باعث کاهش معنی دار در میزان بیان ژن میتوفاژی Mfn2 در گروه DOX نسبت به گروه HIIT کنترل گردید ( $P < 0.01$ ). تجویز تروگزروتین و تمرین HIIT هر کدام به تهایی به افزایش غیر معنی دار میزان بیان ژن میتوفاژی Mfn2 نسبت به گروه DOX منجر شد. قابل توجه این است که تجویز تمرین HIIT توان با مصرف تروگزروتین قبل از القاء آسیب قلبی ناشی از DOX به افزایش معنی دار میزان بیان ژن میتوفاژی Mfn2 نسبت به گروه DOX منجر شد ( $P < 0.01$ ).



نمودار شماره ۱- میزان بیان ژن میتوفاژی Mfn2 در قلب رت ها در گروه های مختلف

\*\*: اختلاف معنی دار در سطح  $P < 0.01$  نسبت به گروه کنترل، #: اختلاف معنی دار در سطح  $P < 0.01$  نسبت به گروه DOX

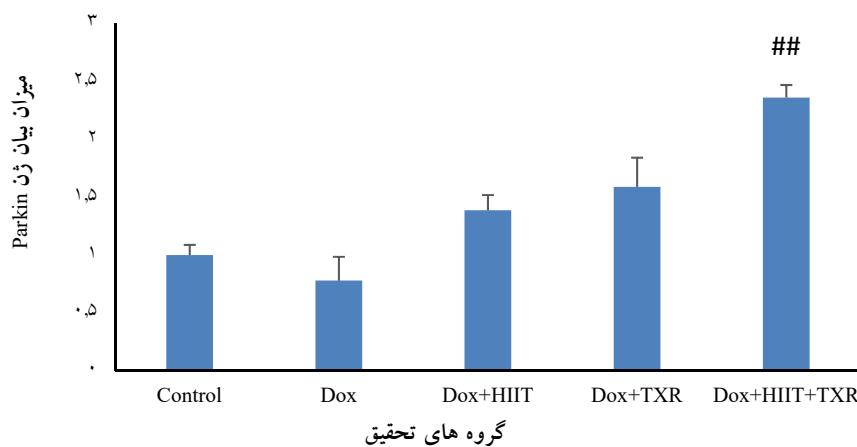
نمودار شماره ۲ نشان می دهد که القاء آسیب قلبی ناشی از DOX باعث کاهش غیر معنی دار میزان بیان ژن میتوفاژی Parkin در گروه

( $P < 0.01$ ) که مؤید القاء آسیب قلبی می باشد. ۷۲ ساعت بعد از تزریق DOX، حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتابمین (۶۰ میلی گرم / کیلو گرم) و زایلazin (۱۰ میلی گرم / کیلو گرم) بیهوش شدند. سپس، قلب حیوانات به سرعت برداشته شد و بافت بطن چپ قلب جهت مطالعه مولکولی جدا گردید و لاشه حیوانات به روشن بهداشتی معده شد.

اندازه گیری بیان ژن ها: بلا فاصله پس از نمونه برداری بافتی، تمام نمونه های بافتی بطن چپ به محلول مهار کننده RNase متنقل شد - ساخت شرکت Qiagen و تا زمان استخراج RNA در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد ذخیره گردید. گروه های بدون درمان DOX و تروگزروتین نیز مقدار مشابهی از سالین دریافت کردند [۲]. برای بررسی ژن های مورد نظر با استفاده از تکنیک Real-Time PCR ابتدا RNA تام سلولی از بافت ها به دقت استخراج گردید و سپس PCR cDNA تولید شده به عنوان DNA الگو برای انجام واکنش mRNA مورداستفاده قرار گرفت. برای انجام PCR کمی بر روی Real time PCR با استفاده از دستگاه Roche Light Cycler 96 مورداستفاده متد کلاسیک سایبر گرین (SYBR Green) بود [۱۸]. داده های ژنی در بین گروه ها براساس متد  $\Delta\Delta Ct$  موردمقایسه قرار گرفتند. برای آنالیز داده ها، از روش های آماری توصیفی (میانگین  $\pm$  SEM) و جهت مقایسه تغییرات پارامترها در بین گروه ها

تمرین HIIT قبل از تزریق DOX به افزایش معنی دار میزان بیان ژن میتوفاژی Parkin نسبت به گروه DOX منجر گردید ( $P<0.01$ ).

نسبت به گروه DOX منجر شد و نیز مصرف تروگرزوتین قبل از مصرف DOX به افزایش غیرمعنی دار در میزان بیان این ژن نسبت به گروه DOX منجر شد. تنها تجویز توأم تروگرزوتین همراه با



نمودار شماره ۲- میزان بیان ژن میتوفاژی Parkin در قلب رت‌ها در گروه‌های مختلف

$\#$ : اختلاف معنی دار در سطح  $P<0.01$  نسبت به گروه DOX

مقادیر میانگین و انحراف معیار متغیرهای اندازه‌گیری شده در این تحقیق در جدول شماره ۲ گزارش شده است.

جدول شماره ۲- تغییرات بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و Parkin در گروه‌های مورد آزمایش ( $\bar{X} \pm SD$ )

گروه‌های آزمایشی	متغیرها	Control	DOX	HIIT+DOX	TRX+DOX	HIIT+TRX+DOX
تغییرات بیان ژن Mfn2 نسبت به بیان GAPDH		۱	$0.0 \pm 0.0 / 11^{**}$	$1.0 \pm 0.29 / 22$	$1.0 \pm 0.53 / 24$	$2.0 \pm 0.7 / 21^{##}$
تغییرات بیان ژن Parkin نسبت به بیان GAPDH		۱	$0.0 \pm 0.78 / 21$	$1.0 \pm 0.38 / 13$	$1.0 \pm 0.56 / 25$	$2.0 \pm 0.35 / 11^{##}$

$^{**}$ : اختلاف معنی دار در سطح  $P=0.001$  نسبت به گروه کنترل.  $^{##}$ : اختلاف معنی دار در سطح  $P=0.008$  نسبت به گروه DOX

LDH پلاسمای باعث محافظت قلب در برابر سمیت ناشی از DOX می‌شود [۲۵]. همچنین، HIIT قبل و در حین درمان با DOX، از طریق افزایش مقادیر آنتی‌اکسیدانی در بافت قلبی از عوارض جانبی قلبی ناشی از DOX می‌کاهد [۲۶]. حیدرزاده و همکاران (۲۰۱۴)، تأثیر تروگرزوتین را بر روی مارکر آسیب بافتی (کراتین کیاناز) ناشی از اثر محافظتی تروگرزوتین دانستند. ممکن است این تأثیر محافظتی به توانایی این بیوفلاؤنوئید در پاکسازی و مهار تولید رادیکال‌های آزاد نسبت داده شود [۲۷]. تغییرات ناشی از Dox در بیان ژن، شامل کاهش تنظیم پارکین و اختلال در انتقال آن به میتوکندری است؛ بنابراین میتوفاژی واسطه پارکین / PINK1 را مهار می‌کند. به طور کلی، اختلال در میتوفاژی می‌تواند باعث مرگ کاردیومیوسیت‌ها شود [۵]. نشان داده شده است که تمرین ورزشی

## بحث

در این تحقیق پس از القاء اثر سمیت قلبی دوکسسوروبیسینی در رت‌ها که با افزایش سطح لاکتات دهیدروزناز سرم نشان داده شد، نتایج بیان کرد که مصرف DOX باعث کاهش بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و Parkin در سلول‌های قلبی رت‌ها می‌گردد؛ ولی انجام تمرین HIIT و مصرف تروگرزوتین، دو ماه قبل از تزریق DOX، باعث افزایش بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و Parkin می‌شود و به نظر می‌رسد تأثیر هم‌افزایی در این دو مداخله درمانی توأم وجود داشته است. در پی درمان با DOX، بیومارکرهای آسیب قلبی سرم خون افزایش می‌یابد [۲۳]. در مطالعه شیرین‌بیان و راشن گزارش شده است که مصرف DOX به افزایش سطح LDH در سرم رت‌ها منجر می‌شود [۲۴]. تمرین HIIT از طریق کاهش سطح

مثبت HIIT به همراه تروگرروتین بهرهمند می‌شوند. محققان پژوهش حاضر، در مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تجویز هم‌زمان HIIT با تروگرروتین در طی دوره‌های درمان با DOX اثر محافظت قلبی دارد. به نظر می‌رسد که تعدیل بیان ژن‌های میتوفاژی به عنوان بخشی از مکانیسم‌های ایجاد محافظت قلبی، توسط این مداخلات درمانی باشد. همچنین، ممکن است با بهینه‌سازی شدت، زمان و مدت زمان رژیم ورزشی HIIT برای هر بیمار، قابلیت ترجیحه‌پذیری تجویز هم‌زمان آن با تروگرروتین در برنامه درمان گروه خاصی از بیماران قابل دستیابی باشد. برای نتیجه‌گیری بهتر در این زمینه، مطالعات تکمیلی می‌تواند مفید باشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که تأثیر توازن تروگرروتین و تمرین HIIT در پیشگیری از سمیت قلبی، بیشتر از تأثیر هر یک از آن‌ها به تنهایی بود و به نظر می‌رسد تروگرروتین اثرات مفید ورزش تناوبی شدید را در بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و Parkin تقویت می‌کند و این عمل به عنوان یکی از مکانیسم‌های ایجاد محافظت قلبی در اثر این مداخلات درمانی ترکیبی می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان این مقاله نهایت تشکر و قدردانی خود را از خدمات کارکنان مرکز تحقیقات داروبی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز جهت کمک در انجام آزمایش‌ها و سنجش‌های این تحقیق ابراز می‌دارند.

### References:

- [1] Dolinsky VW, Rogan KJ, Sung MM, Zordoky BN, Haykowsky MJ, Young ME, et al. Both aerobic exercise and resveratrol supplementation attenuate doxorubicin-induced cardiac injury in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013; 305: E243-53.
- [2] Koleini N and Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncotarget* 2017; 8(28): 46663-80.
- [3] Singal P, Kumar D, Danielson I, Iliskovic N. Adriamycin-induced heart failure: mechanisms and modulation. *Mole Cell Biochem* 2000; 207(1-2): 77-86.
- [4] Cadete VJ, Deschenes S, Cuillerier A, Brisebois F, Sugiura A, Vincent A, et al. Formation of mitochondrial-derived vesicles is an active and physiologically relevant mitochondrial quality control process in the cardiac system. *J Physiol* 2016; 594: 5343-62.
- [5] Ebadi B, Damirchi A. Effect of exercise training intensity on mitochondrial dynamics and mitophagy in post myocardial infarction rat. *Int J Appl Exrc Physiol* 2018; 7(2): 2322-3537.
- [6] Kavazis AN, Smuder AJ, Powers SK. Effects of short-term endurance exercise training on acute doxorubicin-induced FoxO transcription in cardiac and skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2014; 117(3): 223-30.
- [7] Dolinsky VW, Rogan KJ, Sung MM, Zordoky B.N, Haykowsky MJ, Young ME, et al. Both aerobic exercise and resveratrol supplementation attenuate doxorubicin-induced cardiac injury in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013; 305: E243-253.
- [8] Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Mariani D, Rizo-Roca D, Padrão AI, RochaRodrigues S, et al. Physical exercise prior and during treatment reduces subchronic doxorubicin-induced mitochondrial toxicity and oxidative stress. *Mitochondrion* 2015; 20: 22-33.
- [9] Smuder AJ, Kavazis AN, Min K, Powers SK. Doxorubicin-induced markers of myocardial

از طریق سیستم میتوفاژی پیشرفت، پویایی و کیفیت میتوکندری را بهبود می‌بخشد [۲۸]. تمرین تناوبی با شدت متوسط به بازسازی پروتئین‌های میتوفاژی و بهبود عملکرد میتوکندری در موش‌های صحرایی مبتلا به سکته قلبی منجر می‌شود [۵]. گزارش شده است که تمرین HIIT می‌تواند عملکرد قلبی را به وسیله مهار تغییرات ناشی از دوکسوروپیسین در دینامیک و بیوژنر میتوکندری بهبود بخشد [۲۹]. آنتی‌اسیدان‌ها، دینامیک میتوکندری، بیوژنر میتوکندری و مسیرهای پیام‌رسانی AMPK می‌توانند به عنوان مکانیسم‌های مولکولی احتمالی محافظت تمرین HIIT در سلول‌های عضله قلبی در برابر سمیت ناشی از دوکسوروپیسین باشند [۳۰]. نتایج تحقیق Parkin Mfn2 و DOX باعث کاهش معنی‌دار میزان بیان ژن Mfn2 (P<0.01) و کاهش غیرمعنی‌دار میزان بیان ژن Parkin در گروه DOX نسبت به گروه کنترل، شده است؛ اما تمرین HIIT و نیز مصرف تروگرروتین قبل از مصرف DOX. هر کدام به طور جداگانه، به افزایش غیرمعنی‌دار میزان بیان ژن‌های میتوفاژی Mfn2 و Parkin نسبت به گروه DOX منجر شده است. همچنین مصرف تروگرروتین توازن با تمرین HIIT قبل از مصرف DOX به افزایش معنی‌دار میزان بیان ژن میتوفاژی Mfn2 (P<0.05) و Parkin (P<0.01) نسبت به گروه DOX منجر شده است. در این مطالعه، رژیم ورزشی HIIT و تجویز تروگرروتین به عنوان یک پروتکل پیشگیری برای مقابله با سمیت قلبی DOX، توانان استفاده شد. بیمارانی که در مراحل اولیه تشخیص سرطان هستند و می‌توانند این ورزش را قبل از شروع درمان با DOX تحمل کنند، از تأثیرات

- autophagic signaling in sedentary and exercise trained animals. *J Appl Physiol* 2013; 115: 176-85.
- [10] Gibala MJ, Jones AM. Physiological and performance adaptations to high-intensity interval training. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 2013; 76: 51-60.
- [11] Macinnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J Physiol* 2017; 595(9): 2915-30.
- [12] Ebrahimi Kh, Choobineh S, Badalzadeh R, Soori R. Protective Effect of Aerobic High-Intensity Interval Training Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats. *J Know Heal* 2018; 13(1). [in Persian]
- [13] Fan SH, Zhang ZF, Zheng YL, Lu J, Wu DM, Shan Q, et al. Troxerutin protects the mouse kidney from d-galactose-caused injury through antiinflammation and anti-oxidation. *Int Immunopharmacol* 2009; 9(1): 91-6.
- [14] Sarkar A, Biswas N, Kapoor S, Mahal HS, Nair CKK and Mukherjee T. One-electron redox reactions of troxerutin in aqueous solutions. *Res Chem Interme* 2005; 31(9): 857-866.
- [15] Gohel MS, Davies AH. Pharmacological agents in the treatment of venous disease: an update of the available evidence. *Cur Vascu Pharmaco* 2009; 7(3): 303-8.
- [16] Taghavi Holagh A, Abed Natanzi H, Badalzadeh R, Ghazalian F. The synergistic effect of high-intensity interval training and troxerutin on heart injury and mitochondrial function in doxorubicin-induced cardiac toxicity. *J Know Heal* 2020; 15(3): 46-53. [in Persian]
- [17] Taghavi Holagh A, Abed Natanzi H, Badalzadeh R, Ghazalian F. The effect of Troxerutin combined with high intensity interval training on heart injury and expression of antioxidant genes in doxorubicin-induced cardiac toxicity in male rats. *Daneshvar Med* 2021; 29(2): 78-89. [in Persian]
- [18] Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim M, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc Res* 2009; 81(4): 723-32.
- [19] Babri S, Amani M, Mohaddes G, Alihemmati A, Ebrahimi H. Protective effects of troxerutin on  $\beta$ -amyloid (1-42)-induced impairments of spatial learning and memory in rats. *Neurophy* 2012; 44(5): 387-93.
- [20] Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: Practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; 14(6): 753-60.
- [21] Ascensão A, Magalhães 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 Circul Physiol* 2005; 289(2): 722-31.
- [22] Asadi M, Shanelbandi D, Mohammadpour H, Hashemzadeh S, Sepehri B. Expression Level of miR-34a in Tumor Tissue from Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *J Gastroint cancer* 2018; 1-4.
- [23] Zhou S, Starkov A, Froberg MK, Leino RL, Wallace KB. Cumulative and Irreversible Cardiac Mitochondrial Dysfunction Induced by Doxorubicin. *Cancer Res* 2001; 61(2): 771-7.
- [24] Shirinbayan V, Roshan VD. Pretreatment effect of running exercise on HSP70 and DOXinduced cardiotoxicity. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 5849-55.
- [25] Ebrahimi KH, Choobineh S, Soori R and Badalzadeh R. Cardioprotective Effect of High-Intensity Aerobic Interval Training against Adriamycin-Induced Cardiac Toxicity in Rats. *J Clin Res Paramed Sci* 2019; 8(1): e83850.
- [26] Jarrett CL, D'Lugos AC, Mahmood TN, Gonzales RJ, Hale TM, Carroll CC, et al. Effect of high intensity exercise preconditioning and training on antioxidant enzymes in cardiomyocytes during doxorubicin treatment. *FASEB J* 2016; 30 (Suppl 1): lb601.
- [27] Heidarzadeh F, Badalzadeh R and Hatami H. The effect of troxerutin on lipid peroxidation and tissue injury induced by myocardial ischemia reperfusion injury in diabetic rat. *Razi J Med Sci* 2014; 21(125): 37-45. [in Persian]
- [28] Drake JC, Wilson RJ, Yan Z. Molecular mechanisms for mitochondrial adaptation to exercise training in skeletal muscle. *FASEB J* 2016; 30(1): 13-22.
- [29] Jiang HK, Miao Y, Wang YH, Zhao M, Feng ZH, Yu XJ, et al. Aerobic interval training protects against myocardial infarction-induced oxidative injury by enhancing antioxidant system and mitochondrial biosynthesis. *Cli Expe Pharmacol Physiol* 2014; 41(3): 192-201.
- [30] Ascensão A, Ferreira R, Oliveira PJ, Magalhães J. Effects of endurance training and acute Doxorubicin treatment on rat heart mitochondrial alterations induced by in vitro anoxia-reoxygenation. *Cardiovasc Toxicol* 2006; 6(3-4): 159-72.