

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

Moradi M¹, Shakerian S^{2*}, Nikbakht M²

1- Department of Sport Physiology, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran.

2- Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received: 2019/04/27 | Accepted: 2019/09/2

Abstract:

Background: Doxorubicin (Dox) is an anthracycline antibiotic that is widely used as a chemotherapy agent. However, the benefit of this agent is limited due to its side effects. The purpose of this study was to investigate the effect of high intensity interval training and crocin consumption on oxidative stress in liver tissue of male rats under chronic induction of doxorubicin.

Materials and Methods: In the present experimental study, 40 Wistar male rats were placed in groups: Healthy control (saline), doxorubicin (control) (2mg/kg in 7 doses), doxorubicin and crocin (2mg/kg), doxorubicin training, and doxorubicin, crocin and training. The training groups ran in 80-90% of maximum speed for 8 weeks, 5 days a week, with 2-minute intervals. The level of malondialdehyde, activity of superoxide dismutase and catalase enzymes in liver tissue was measured.

Results: Doxorubicin significantly increased malondialdehyde levels and reduced the activity of superoxide dismutase and catalase in the liver tissue in the groups receiving doxorubicin compared to the healthy control group ($P<0.001$). Use of all three interventions caused a significant decrease in malondialdehyde level ($P<0.001$) and a significant increase in superoxide dismutase and catalase activity as a result of exercise (both enzymes, $P=0.001$), crocin ($P=0.002$ and $P=0.001$) and combination of exercise and crocin (both enzymes, $P=0.001$) compared to the control group of doxorubicin. Also, the combined effect of exercise and crocin was better than the effect of each alone ($P<0.001$).

Conclusion: It seems that regular high intensity interval training, supplementation of crocin, or a combination of these two, can reduce the toxicity of doxorubicin by reducing oxidative stress.

Keywords: Oxidative stress, High interval training Doxorubicin, Liver, Crocin

*Corresponding Author:

Email: sashakeryan@gmail.com

Tel: 0098 916 314 3363

Fax: 0098 613 333 3631

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 23, No 5, Pages 485-494

Please cite this article as: 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. *Feyz* 2019; 23(5): 485-94.

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف کروسین بر استرس اکسیداتیو بافت کبد رت‌های نر تحت القای مزمن دوکسوروبیسین

مهرآز مرادی^۱، سعید شاکریان^{۲*}، مسعود نیکبخت^۲

خلاصه:

سابقه و هدف: دوکسوروبیسین (Dox) یک آنتی‌بیوتیک آنتراسیکلین است که به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان عامل شیمی‌درمانی استفاده می‌شود. با این حال، مفید بودن این عامل با توجه به عوارض جانبی آن محدود است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف کروسین بر استرس اکسیداتیو بافت کبد رت‌های نر تحت القای مزمن دوکسوروبیسین بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار در گروه‌های کنترل سالم، دوکسوروبیسین (۲ mg/kg) در ۷ دوز، دوکسوروبیسین-کروسین (۲ mg/kg)، دوکسوروبیسین-تمرین و دوکسوروبیسین-تمرین-کروسین قرار گرفتند. گروه‌های تمرینی به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته، با تناوب‌های ۲ دقیقه‌ای و با شدت ۸۰-۹۰ درصد سرعت پیشینه دویدند. سطح مالون دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز در بافت کبدی اندازه‌گیری شد.

نتایج: دوکسوروبیسین باعث افزایش معنی‌داری در سطح مالون دی‌آلدهید و کاهش معنی‌داری در فعالیت سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز بافت کبد در گروه‌های دریافت‌کننده دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کنترل سالم شد ($P=0/001$). کاربرد هر سه مداخله باعث کاهش معنی‌داری در سطح مالون دی‌آلدهید ($P=0/001$) و افزایش معنی‌داری در فعالیت سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز در نتیجه‌ی دریافت تمرین (در هر دو آنزیم، $P=0/001$ ، کروسین $P=0/002$ و $P=0/001$) و ترکیب تمرین و کروسین (در هر دو آنزیم، $P=0/001$) در مقایسه با گروه کنترل دوکسوروبیسین شد. همچنین اثر ترکیبی تمرین و کروسین بهتر از اثر هر کدام به تنهایی بود ($P=0/001$). **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرینات منظم تناوبی شدید، کروسین و ترکیب این دو می‌تواند با کاهش استرس اکسیداتیو، اثرات محافظتی در برابر سمیت کبدی ناشی از دوکسوروبیسین داشته باشد.

واژگان کلیدی: استرس اکسیداتیو، تمرین تناوبی، دوکسوروبیسین، کبد، کروسین

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۵، آذر و دی ۹۸، صفحات ۴۹۴-۴۸۵

مقدمه

سیستم دفاع آنزیماتیک شامل آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (Cat) و سوپراکسیددسموتاز (SOD) است که مسؤول محافظت‌های داخل سلولی هستند [۷]. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با مکانیسم‌های متعددی مانند: برداشت اکسیژن یا کاهش غلظت موضعی اکسیژن، برداشت یون‌های فلزی کاتالیتیک‌مانند و برداشت Fe^{2+} ، Cu^{2+} و برداشت گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) عمل نمایند [۸]. استرس اکسیداتیو در محیط سلولی منجر به تشکیل لیپید پراکسیدهای ناپایدار و واکنش‌گر می‌شود. یکی از مهم‌ترین محصولات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدها، مالون دی‌آلدهید می‌باشد (MDA) که بسیار مورد توجه بوده، به‌عنوان نشانگر اصلی استرس اکسیداتیو محسوب می‌شود [۹، ۱۰]. استراتژی‌های مختلفی جهت کاهش اثرات سمی دوکسوروبیسین بر بافت‌های غیر هدف به کار گرفته شده‌است که از این بین می‌توان به استفاده از گیاهان دارویی [۱۱]، رژیم غذایی [۱۲] و نیز انواع مختلف تمرینات طولانی مدت [۱۳، ۱۴] با هدف افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی بافت اشاره کرد [۱۴]. در زمینه تأثیر فعالیت بدنی بر استرس اکسیداتیو و پیشگیری یا درمان سمیت بافتی ناشی از دوکسوروبیسین، بیشتر پژوهش‌ها بر تأثیر تمرین هوازی تداومی (شنا، چرخ دوار، دویدن روی نوار

امروزه سرطان به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین مشکلات سلامت عمومی و دومین عامل مرگ‌ومیر در جهان شناخته شده است [۱]. در حال حاضر درمان‌های رایج برای این بیماری، جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی هستند [۲]. دوکسوروبیسین (Doxorubicin) یک داروی ضدسرطان است که در درمان چندین نئوپلاسم انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ با این حال، استفاده از آن در شیمی‌درمانی بالینی با یک سمیت وابسته به دوز در بافت‌های غیرهدف، از جمله کبد محدود شده‌است [۳، ۴]. هرچند مکانیزم‌های مسؤول سمیت ناشی از دوکسوروبیسین به وضوح مشخص نیست، بیشتر شواهد حاکی از این است که این آسیب ممکن است با پراکسایشی لیپیدی و تولید رادیکال‌های آزاد مرتبط باشد [۵، ۶].

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران
۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* نشانی نویسنده مسؤول:

دورنویس: ۰۶۱ ۳۳۳۳۳۶۳۱

تلفن: ۰۹۱۶۳۱۴۳۶۳

پست الکترونیک: sashakeryan@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۶/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۷

کبد رت‌های نر قرار گرفته در معرض القای مزمن دوکسوروبیسین انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۴۰ سر رت نر ویستار با میانگین سنی ۸ هفته و میانگین وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم از مرکز پژوهش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه جندی‌شاپور اهواز خریداری شد. حیوانات پس از ورود به محیط پژوهش در قفس‌های تمیز و شفاف تحت شرایط استاندارد چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته و دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت هوای 35 ± 5 درصد با تهویه مناسب و با دسترسی آزاد به آب و غذا به مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش‌ها برای ایجاد تطابق با محیط آزمایشگاه قرار گرفتند. به‌منظور آشنایی با نحوه انجام پروتکل و فعالیت روی نوار گردان ویژه جوندگان، برنامه تمرین سبک شامل ۱۰ جلسه راه‌رفتن و دویدن با سرعت ۸-۱۰ متر در دقیقه در شیب صفر درجه و به‌مدت ۵-۱۰ دقیقه انجام شد. بعد از دو هفته آشناسازی با محیط و نحوه انجام فعالیت، موش‌های صحرایی به روش تصادفی در ۵ گروه ($n=8$)، کنترل سالم (سالمین)، کنترل بیمار (دوکسوروبیسین mg/kg)، ۲ در ۷ دوز، دوکسوروبیسین-کروسین ($2 mg/kg$)، دوکسوروبیسین+تمرین، دوکسوروبیسین+تمرین+کروسین قرار گرفتند. کلیه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این تحقیق براساس موازین اخلاقی مصوب با استانداردهای اخلاقی در تحقیقات وزارت علوم و با کد IR.SSRC.REC.1397.005 رعایت شد. برنامه تمرینی شامل دویدن روی نوارگردان بدون شیب، ویژه‌ی جوندگان، به‌صورت تناوب‌های دو دقیقه‌ای، در ۸ هفته و هر هفته به‌مدت پنج روز اجرا شد. مرحله گرم‌کردن و سردکردن در ابتدا و انتهای مرحله اصلی تمرین با شدت ۵۰-۴۰ درصد سرعت پیشینه (۲۰-۱۶ متر در دقیقه) به‌مدت ۵ دقیقه بر روی نوار گردان انجام شد. تمرین اصلی شامل انجام ۲ تناوب دو دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد سرعت پیشینه در هفته اول (۳۲ متر در دقیقه)؛ ۴ تناوب دو دقیقه‌ای با ۸۵ درصد سرعت پیشینه در هفته دوم (۳۴ متر در دقیقه) و ۶ تناوب دو دقیقه‌ای با ۹۰ درصد سرعت پیشینه از ابتدای هفته سوم (۳۶ متر در دقیقه) که شدت تا پایان دوره حفظ شد؛ ولی از ابتدای هفته چهارم تا پایان دوره تعداد ۸ تناوب شدید انجام شد. تناوب‌های با شدت پایین شامل دو دقیقه با شدت ۴۰ درصد سرعت پیشینه از هفته اول تا پایان هفته سوم (۱۵ متر در دقیقه) و ۳۰ درصد سرعت پیشینه (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

گردان) تمرکز کرده و نشان داده‌اند تمرینات هوازی و استقامتی مقاومت بافتی را در برابر محرک‌های زیان‌آوری که باعث استرس اکسیداتیو داخل سلولی و آپوپتوز می‌شوند، بهبود می‌بخشد [۱۵]. یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که تمرین تناوبی شدید (High intensity interval training)، با وجود زمان کم و کاهش حجم کل فعالیت در مقایسه با تمرین تداومی با شدت متوسط، سازگاری‌های فیزیولوژیکی قابل توجهی ایجاد می‌کند [۱۶، ۱۷]. در مقابل، نتایج بعضی پژوهش‌ها نشان داده که به دنبال فعالیت‌های بدنی شدید با افزایش گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی از جمله مالون دی‌آلدهید و عدم تعادل بین فشار اکسایشی و دفاع ضد‌اکسایشی منجر به کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام می‌شود [۱۸]. مشخص شده بعد از ۶ هفته تمرین اینتروال شدید، تفاوت معنی‌داری در میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و مالون دی‌آلدهید بافت کبد و قلب رت‌های باردار، مشاهده نشده‌است [۱۹]. در زمینه به‌کارگیری گیاهان دارویی با خاصیت درمانی و آنتی‌اکسیدانی می‌توان به گیاه زعفران اشاره کرد. گیاه زعفران با نام علمی کروکوس ساتیوس گیاهی کوچک و چند ساله، از خانواده زنبقیان است که چاشنی غذایی پر مصرف و دارای خواص و کاربردهای دارویی و درمانی متعددی می‌باشد [۲۰]. زعفران دارای ترکیبات متعددی از جمله: کروسین، کروتستین و سافرانال می‌باشد که از بین اجزای فعال آن، کروسین عامل اصلی فعالیت‌های متعدد فارماکولوژیک آن است [۲۱]. کروسین (Crocine) یکی از مهم‌ترین کاروتنوئیدهای زعفران و عامل ایجادکننده رنگ زعفران می‌باشد. ازجمله خواص کروسین می‌توان به آثار ضد‌آتروژنی و ضد‌لخته، محافظت‌کنندگی سیستم عصبی و نورون‌ها و... اشاره کرد [۲۲]. مشخص شده‌است که کروسین موجود در زعفران، قلب موش‌های صحرایی را در برابر اثرات توکسیک ایزوپروترونول (Isoproterenol) از طریق تعدیل تنش های اکسیداتیو محافظت می‌کند [۲۳]. همچنین نشان داده شده‌است کروسین، سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین را با تنظیم منفی مسیرهای التهابی و آپوپتیک در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد [۲۴]. باتوجه به نتایج متناقض تحقیقات در زمینه تأثیر تمرین تناوبی شدید بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و تأثیر تمرینات تناوبی شدید به‌تنهایی و نیز در ترکیب با کروسین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو، جهت یافتن راهکار غیردارویی مؤثر ضرورت دارد. با عنایت به موارد مذکور، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مکمل کروسین بر سطوح مالون دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز بافت

۳۲ دقیقه و از ابتدای هفته چهارم به بعد ۴۰ دقیقه بود. این پروتکل بر اساس پروتکل رضایی و همکاران و خان‌محمدی و همکاران

طراحی و باتوجه به اثرات و عوارض داروی دوکسوروبیسین بر عملکرد موش‌های صحرایی، شدت آن تعدیل شد [۴۵،۲۵].

جدول شماره ۱- پروتکل تمرین تناوبی آزمودنی‌ها در هفته‌های مختلف

مراحل تمرین مؤلفه تمرین	گرم کردن	بدنه اصلی تمرین	سرد کردن
شدت تمرین	۴۰-۵۰ درصد سرعت پیشینه	هفته اول ۸۰ درصد سرعت پیشینه	هفته دوم ۸۵ درصد سرعت پیشینه
مدت تمرین	۵ دقیقه	۲ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت بالا- یک تکرار استراحت فعال	۴ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت بالا- سه تکرار استراحت فعال
	۱۶ دقیقه	۲۴ دقیقه	۳۲ دقیقه

تهیه و نحوه مصرف کروسین: کروسین به شکل پودر آماده در ویال‌های یک‌گرمی با درجه خلوص ۹۸ درصد از شرکت سیگمای آمریکا خریداری شد. گروه‌های دریافت‌کننده مکمل و ترکیب تمرین و مکمل، در روزهای تمرین به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن مقدار ۱۰ میلی‌گرم کروسین حل‌شده در حجمی معادل ml/kg ۱۰ نرمال‌سالین، به مدت ۸ هفته به صورت خوراکی (گاواژ) دریافت کردند. گروه‌های کنترل سالم و بیمار هم به همان میزان نرمال‌سالین، به‌صورت گاواژ دریافت کردند [۲۶]. تهیه و تزریق داروی دوکسوروبیسین و سالین: داروی دوکسوروبیسین از شرکت بلژیکی Ebeve خریداری شد و سپس برای تهیه دوز مورد نظر، ۷ دوز ۲ mg/kg (دوز تجمعی ۱۴ mg/kg) با نرمال‌سالین رقیق شد. دوکسوروبیسین به میزان موردنظر به‌وسیله سرنگ انسولینی به‌صورت زیرصفاقی هفت‌بار 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 باتوجه به اثرات احتمالی ناشی از تزریق در گروه‌های دریافت‌کننده دوکسوروبیسین، به‌منظور یکسان‌سازی شرایط برای همه آزمودنی‌ها و خنثی‌نمودن اثر تزریق، گروه کنترل سالم نیز به همان میزان سالین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) دریافت کرد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه‌روزی تمام تزریقات همگن و حدود ساعت ۱۰ صبح صورت گرفت [۲۷].

بافت‌برداری: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین موش‌ها و پس از ناشتایی شبانه نمونه‌برداری انجام شد. در ابتدا حیوان با ترکیبی از داروی کتامین و زایلازین (به‌ترتیب ۹۰ و ۱۰ mg/kg) به-صورت تزریق درون‌صفاقی بیهوش شد و پس از شکافتن حفره شکمی، بافت کبد به دقت جدا شد و پس از شستشو با آب مقطر

و توزین وزن، بلافاصله در فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری سطوح مالون دی‌آلدید و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیداز دیسموتاز و کاتالاز قرار گرفت.

آنالیز بیوشیمیایی

در ابتدا نمونه‌های بافت از فریزر خارج شده، جهت آماده‌سازی نمونه هر ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر فسفات نمکی حاوی کوکتل آنتی‌پروتئاز (ساخت شرکت Gold bio آمریکا) توسط هوموژنایزر، هوموژن شده و سپس بافت هوموژات در Ref ۱۰۰۰۰ برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ساترنفیوژ و سوپرناتانت (محلول رویی) جمع‌آوری شد و برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. شایان ذکر است که کیت‌های آنالیز بیوشیمیایی از شرکت ZellBio آلمان، تهیه شدند و مورد استفاده قرار گرفتند. سطوح بافتی مالون دی‌آلدید به‌روش Lapenna و همکاران و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Unico S2100 ساخت کشور آمریکا و کیت مخصوص اندازه‌گیری شد. اساس روش اندازه‌گیری مالون دی‌آلدید بر پایه واکنش با تیوبایتوریک اسید، استخراج با بوتانل نرمال (C₄H₁₀O)، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد در طول موج ۵۳۲ نانومتر استوار بود [۲۸]. فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز توسط کیت تحقیقاتی، با ضریب تغییرات ۴/۷ و حساسیت ۱ میکرومول به روش رنگ‌سنجی آنزیمی و در طول موج ۵۰۵ نانومول اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز توسط کیت تحقیقاتی مخصوص (با ضریب تغییرات ۴/۳ و حساسیت ۰/۵ میکرومول به‌روش رنگ‌سنجی آنزیمی) و در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

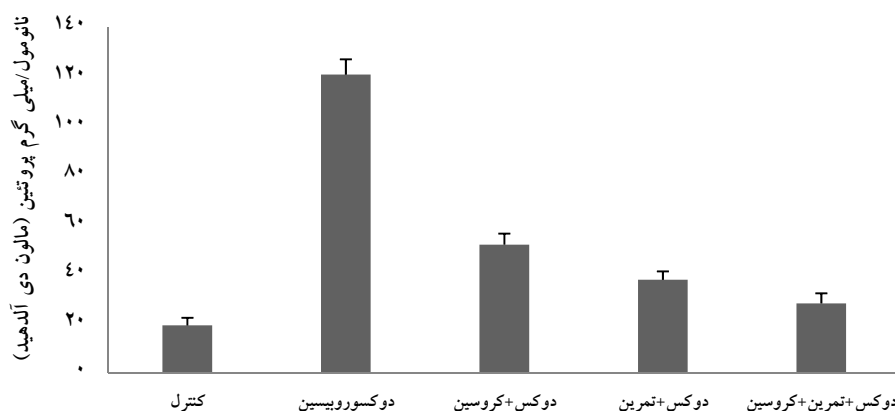
تحلیل آماری

جهت بررسی طبیعی بودن داده‌ها و تجانس واریانس گروه‌ها به ترتیب از آزمون‌های شاپیرو-ویلک و لوین استفاده شد. همچنین برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک-طرفه همراه با مقایسه میانگین‌های توکی در نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ استفاده شد ($P < 0/05$).

نتایج

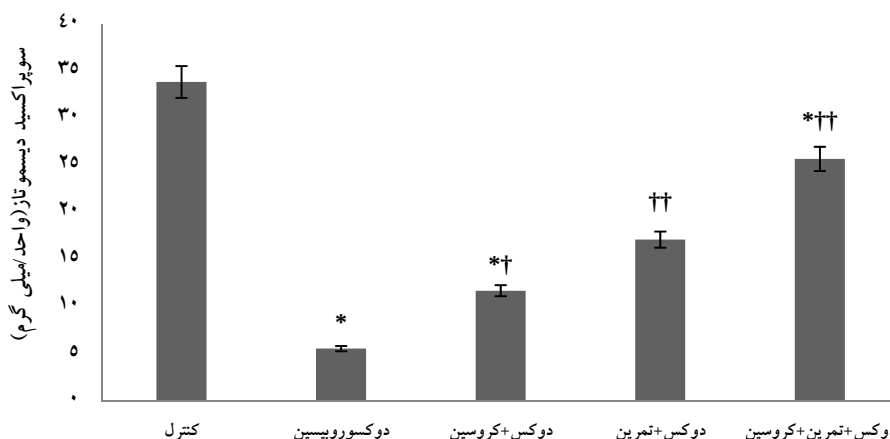
سطح مالون دی‌آلدهید و میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز در شکل‌های شماره ۱، ۲ و ۳ گزارش شده‌است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطوح مالون دی‌آلدهید ($P < 0/001$) و $F = 580/808$ و میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز ($P < 0/001$ و $F = 115/266$) و کاتالاز ($P < 0/001$ و $F = 217/211$) موش‌های صحرایی گروه‌های تحقیق وجود داشت. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطح مالون دی‌آلدهید در گروه کنترل سالی‌ن به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های دوکسورویسین، دوکسورویسین+کروسین، دوکسورویسین+تمرین تمرین ($P < 0/001$) و دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود. همچنین سطح مالون دی‌آلدهید در گروه دوکسورویسین به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه‌های دوکسورویسین+کروسین، دوکسورویسین+تمرین و دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود ($P < 0/001$). همچنین سطح مالون دی‌آلدهید در گروه دوکسورویسین+کروسین به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه‌های دوکسورویسین+تمرین و دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود. به‌علاوه سطح مالون دی‌آلدهید در گروه دوکسورویسین+تمرین بالاتر از گروه دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود. نتایج آزمون

تعقیبی توکی نشان داد میزان فعالیت سوپراکسیددسموتاز در گروه کنترل سالی‌ن به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه‌های دوکسورویسین، دوکسورویسین+کروسین، دوکسورویسین+تمرین و دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود. همچنین میزان فعالیت سوپراکسیددسموتاز در گروه دوکسورویسین+کروسین، دوکسورویسین+تمرین و دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود ($P < 0/001$). همچنین میزان فعالیت سوپراکسیددسموتاز در گروه دوکس+کروسین به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های دوکسورویسین+تمرین و دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود. به‌علاوه میزان فعالیت سوپراکسیددسموتاز در گروه دوکسورویسین+تمرین به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود ($P < 0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد میزان فعالیت کاتالاز در گروه کنترل سالی‌ن به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه‌های دوکسورویسین، دوکسورویسین+کروسین، دوکسورویسین+تمرین و دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود. همچنین میزان فعالیت کاتالاز در گروه دوکسورویسین به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های دوکسورویسین+کروسین، دوکسورویسین+تمرین و دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود ($P < 0/001$). همچنین میزان فعالیت کاتالاز در گروه دوکس+کروسین به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های دوکسورویسین+تمرین و دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود. به‌علاوه میزان فعالیت کاتالاز در گروه دوکسورویسین+تمرین به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه دوکسورویسین+کروسین+تمرین بود ($P < 0/001$).



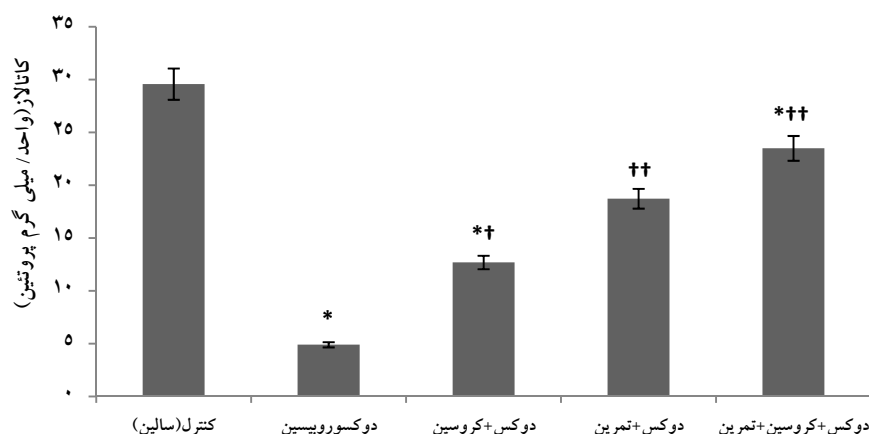
شکل شماره ۱- تغییرات میزان مالون دی‌آلدهید در گروه‌های پنج‌گانه تحقیق

* افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالی‌ن)، † کاهش معنی‌دار نسبت به گروه دوکسورویسین، ‡ کاهش معنی‌دار نسبت به گروه دوکسورویسین+کروسین و گروه دوکسورویسین، ‡† کاهش معنی‌دار نسبت به گروه دوکسورویسین، دوکسورویسین+کروسین و گروه دوکسورویسین و تمرین



شکل شماره ۲- تغییرات میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های پنج‌گانه تحقیق

* کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین)، † کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی‌دار نسبت به گروه دوکسورویسین، †† کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های دوکسورویسین، دوکسورویسین+کروسین، ††† کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های دوکسورویسین، دوکسورویسین+کروسین و دوکسورویسین+تمرین.



شکل شماره ۳- تغییرات میزان فعالیت کاتالاز در گروه‌های پنج‌گانه تحقیق

* کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین)، † کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی‌دار نسبت به گروه دوکسورویسین، †† کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های دوکسورویسین، دوکسورویسین+کروسین، ††† کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های دوکسورویسین، دوکسورویسین+کروسین و دوکسورویسین+تمرین.

بحث

دوکسورویسین در مقایسه با گروه کنترل سالم (سالین) مشاهده شد. در تحقیق حاضر کاهش مقادیر SOD متعاقب القای دوکسورویسین با دوز تجمعی مشاهده شد و این کاهش با افزایش مقادیر MDA قرین شده بود. این نتیجه با یافته‌های اشرفی و همکاران [۲۷] و Sakr و همکاران [۲۸] همسو می‌باشد. نتایج مطالعات گذشته، استرس اکسایشی را عامل اصلی مسمومیت DOX در کبد معرفی کرده‌اند [۳۰، ۲۹]. در این خصوص سازوکارهای متعددی از قبیل: پراکسایشی لیپیدی [۳۱]، مهار اسید نوکلئیک و سنتز پروتئین [۳۲] و آسیب میتوکندریایی [۳۳] برای ایجاد سمیت مرتبط با دوکسورویسین در بافت‌های غیرهدف پیشنهاد شده است. دوکسورویسین همراه کاردیولیپین اتصال کراتین کیناز به غشای داخلی میتوکندریایی را بلوکه می‌کند و

هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف خوراکی کروسین بر میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی مالون دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی بافت کبد (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز) رت‌های نر قرار گرفته در معرض القای مزمن دوکسورویسین بود. یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده اختلال در سطوح و عملکرد شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و اکسیدانی بافت کبد در موش‌های صحرایی قرار گرفته در معرض القای مزمن دوکسورویسین می‌باشد. در این مطالعه، افزایش معنی‌داری در سطح شاخص اکسیداتیو، مالون دی‌آلدهید، و کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز بافت کبد گروه دریافت‌کننده

اکسیژن به بیش از بیست برابر حالت استراحت و بالارفتن جریان اکسیژن به داخل زنجیره‌ی انتقال الکترون در زمان فعالیت بدنی، موجب رهاسازی رادیکال سوپراکسیداز این زنجیره می‌شود. در این زمان آنزیم سوپراکسیددیسموتاز این رادیکال را به رادیکال آزاد ضعیف‌تری به نام پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. برای این عمل سوپراکسید دیسموتاز سیتوپلاسمی نیز در دسترس است. در ادامه آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز اثرات سمی پراکسید هیدروژن را حذف می‌کنند [۳۹، ۳۸]. کاتالاز یکی از اصلی‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت است که هیدروژن پراکسید را به آب و اکسیژن در یک واکنش دو مرحله‌ای تجزیه می‌کند [۴۰]. در مرحله اول، یک مولکول هیدروژن پراکسید به آب و کاتالاز آزاد به ترکیب $\text{I (porphyrin+Fe}^{4+}=\text{O)}$ تبدیل می‌شود. در مرحله دوم، ترکیب I، دومین هیدروژن پراکسید را به مولکول اکسیژن و فری کاتالاز اکسید می‌کند و مولکول آب آزاد می‌شود. بنابراین این آنزیم، سلول‌ها را از اثرات سمی هیدروژن پراکسید محافظت می‌کند [۴۱]. در پژوهش حاضر افزایش معنی‌دار در غلظت آنزیم‌ها در پاسخ به ۸ هفته تمرین می‌تواند به دلیل فعال‌شدن اولین و دومین سدّ دفاعی در مقابل استرس اکسایشی ناشی از دوکسورویسین باشد. یافته دیگر پژوهش حاضر نشان داد ۸ هفته مصرف کروسین باعث کاهش معنی‌دار در غلظت مالون دی‌آلدید و افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز بافت کبد رت‌های قرارگرفته در معرض القای مزمن دوکسورویسین شد. آسیب اکسیداتیو ناشی از تخریب تعادل اکسیدان/آنتی‌اکسیدان، به نفع اکسیدان‌ها است. استرس اکسیداتیو تشکیل‌شده در بافت‌ها با سیستم‌های آنتی-اکسیدانی موجود (آنزیمی و غیرآنزیمی) تنظیم می‌شود. در حمایت از نتایج مطالعه حاضر مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز بافت کبدی به دنبال ۸ هفته مصرف کروسین، Gedik و همکاران، در مطالعه‌ای که به بررسی اثر حفاظتی کروسین بر تغییرات بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک به‌دنبال آسیب کبدی ناشی از آکریلامید (یک ماده اسیدی سرطان‌زا) در موش‌های صحرایی نژاد ویستار پرداختند، نشان دادند مصرف کروسین (50 mg/kg) به‌طور معنی‌داری سطوح کبدی مالون دی‌آلدید را کاهش و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز را افزایش داد [۴۲]. همچنین در مطالعه‌ای که سلحشور و همکاران با عنوان اثر محافظتی کروسین بر سمیت کبدی ناشی از مورفین در موش سوری انجام دادند، نشان دادند مصرف کروسین در دوزهای 50 ، 25 ، $12/5$ mg/kg سطوح استرس اکسیداتیو بافت کبد را بهبود بخشید [۴۳].

فعالیت آنزیم‌های مهم میتوکندریایی وابسته به کاردیولپین را کاهش می‌دهد. به‌علاوه، تجمع مولکول‌های دوکسورویسین در میتوکندری با مجموعه‌ی I از زنجیره‌ی انتقال الکترون، جایی که یک الکترون به دوکسورویسین انتقال می‌یابد، به شروع به کار چرخه‌ی ردوکس می‌انجامد [۳۴]. دوکسورویسین وارد میتوکندری می‌شود و برای تشکیل شکل رادیکال واسطه‌ی نیمه کوئینون، با مجموعه میتوکندریایی واکنش می‌دهد. این شکل نیمه کوئینون دوکسورویسین با اکسیژن واکنش داده، گونه‌های اکسیژنی فعال (Ros) را تولید می‌کند. Ros با مولکول‌های زیستی میتوکندری مجاور، شامل چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش می‌دهد. مشخص شده‌است که دوکسورویسین با DNA میتوکندری نیز واکنش نشان می‌دهد و ترکیبی را تشکیل می‌دهد که با عملکرد طبیعی میتوکندری، بیان پروتئین‌ها و اکسایش چربی مداخله می‌کند [۳۵]. نتیجه تحقیق نشان داد انجام ۸ هفته تمرین تناوبی شدید سبب کاهش معنی‌دار سطح مالون دی‌آلدید و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در مقایسه با گروه کنترل دوکسورویسین شد. هرچند تاکنون تأثیر تمرینات تناوبی شدید بر استرس اکسیداتیو بافت کبد در مدل‌های سالم و بیمار بررسی نشده‌است، اما در راستای نتایج پژوهش حاضر، Lu و همکاران با بررسی رت‌هایی که تحت القای سکت قلبی قرار گرفته بودند و به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته و با تناوب‌های شدید ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۰-۹۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و به مدت ۴۰ دقیقه در هر جلسه تمرین تناوبی انجام دادند، کاهش معنی‌داری در غلظت مالون دی‌آلدید و افزایش معنی‌داری در غلظت سوپراکسیددیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز نشان دادند [۳۶]. همچنین همسو با نتایج این پژوهش، بافقی و همکاران نشان دادند هشت هفته تمرین تناوبی در تناوب-های ۳ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی و به مدت ۲۰ دقیقه در هر جلسه، به همراه مصرف مکمل کورکومین سطوح فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد [۳۷]. در زمینه پاسخ آنزیم‌های ضد اکسایشی نسبت به فعالیت‌های بدنی، پژوهش‌های گذشته چنین فرضیه‌ای را مطرح کرده‌اند که احتمالاً همراه با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، سازگاری‌هایی در میزان تولید و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی سلول‌ها رخ می‌دهد که آثار نامطلوب آن را خنثی می‌کند [۹]. هرچند که مسیر سیگنالینگ این وقایع تا حدودی ناشناخته باقی مانده است. با این وجود اعتقاد بر این است که در سیستم جذب اکسیژن، سوپراکسیددیسموتاز به‌عنوان آنزیمی کلیدی، در اولین مرحله‌ی حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد. افزایش مصرف

دی‌آلدئید کاهش و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در گروه کروسین و تمرین در مقایسه با گروه دیابتی درمان‌نشده افزایش یافته‌است. علاوه بر این، ترکیبی از ورزش و کروسین اثر خود را بر سطح آنتی‌اکسیدانی بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ نسبت به تأثیر هر کدام از آن‌ها به تنهایی افزایش داد [۴۶]. از نقاط قوت تحقیق، قابل کنترل بودن زمان تمرینات، در دسترس بودن وسایل و امکانات مورد نیاز و از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به تمرین اجباری، خوراندن اجباری کروسین و عدم کنترل تأثیر داروهای بیهوشی بر روی آزمودنی‌ها اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع باتوجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا، مصرف کروسین و استفاده ترکیبی از این دو، می‌تواند سطوح افزایش‌یافته شاخص اکسایشی (مالون دی‌آلدئید) ناشی از القای مزمن دوکسورویسین بافت کبد رت‌ها را کاهش و سطوح فعالیت برخی از شاخص‌های سیستم دفاع ضد اکسایشی (سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز) را افزایش دهد. از این رو، براساس یافته‌های تحقیق حاضر احتمالاً می‌توان از فواید تمرینات تناوبی شدید، مکمل کروسین و به‌ویژه ترکیب تمرین و کروسین که راهکار کنترلی در برابر آثار سمیت کبدی ناشی از القای دوکسورویسین است، استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد شوشتر می‌باشد. نویسندگان از تمامی کارکنان گروه علوم تشریح دانشگاه جندی‌شاپور اهواز و نیز گروه فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز که در انجام این پژوهش زحمت فراوانی را تقبل فرمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics. *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): 156-166.
- [3] 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.

فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز نشان‌دهنده سازش مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی است که مسؤول جلوگیری از آسیب بافتی و تشکیل رادیکال آزاد ناشی از افزایش پراکسیداسیون لیپید است. در پژوهشی دیگر عنوان شد کروسین، غلظت بافتی مالون دی‌آلدئید را در بافت ایسکمیک کورتکس مغز به‌طور معنی‌داری کاهش و میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. همچنین گزارش شد، کروسین دارای اثرات محافظتی در مقابل آسیب اکسیداتیو ایسکمیک و ادم مغزی در مدل ایسکمی مغزی موش صحرایی است. این اثر احتمالاً از طریق افزایش ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد عملی می‌شود [۴۴]. یافته دیگر پژوهش حاضر که نقطه قوت این پژوهش هم می‌باشد، این بود که ترکیب تمرین تناوبی شدید و کروسین منجر به کاهش بیشتر در سطوح شاخص اکسایشی مالون دی‌آلدئید و افزایش بیشتر در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در مقایسه با گروه کنترل دوکسورویسین و گروه‌های دیگر تجربی شد؛ به‌طوری‌که تمرین تناوبی شدید و کروسین در ترکیب با هم اثر هم‌افزایی داشته، نسبت به هر کدام از این مداخله‌ها به تنهایی مؤثرتر بود. این یافته، نشان‌دهنده این است که استفاده از مکمل کروسین در کنار تمرینات تناوبی شدید، نسبت به انجام تمرینات تناوبی و مصرف کروسین به تنهایی، اثرات بهتر و بیشتری بر پیشگیری و کاهش عوارض کبدی ناشی از درمان به‌وسیله دوکسورویسین دارد. در این راستا گزارش شد ترکیب کروسین و تمرین تناوبی شدید در برابر استرس اکسیداتیو بافت قلب رت‌های در معرض القای دوکسورویسین را محافظت می‌کند و باعث کاهش معنی‌دار سطوح مالون دی‌آلدئید و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز شد [۴۵]. همچنین در تحقیق دیگری گزارش شده‌است ترکیب کروسین و تمرین تناوبی شدید در برابر استرس اکسیداتیو بافت قلب رت‌های دیابتی شده (نوع ۲) با رژیم غذایی پرچرب اثر محافظتی دارد و سطوح مالون

- [4] Mokni M, Hamlaoui S, Kadri S, Limam F, Amri M, Marzouki L, et al. Efficacy of grape seed and skin extract against doxorubicin-induced oxidative stress in rat liver. *Pak J Pharm Sci* 2015; 28(6): 1971-8.
- [5] Ascensão A, Lumini-Oliveira J, Machado NG, Ferreira RM, Gonçalves IO, Moreira AC, et al. Acute exercise protects against calcium-induced cardiac mitochondrial permeability transition pore opening in doxorubicin-treated rats. *Clin Sci (Lond)* 2011; 120(1): 37-49.

- [6] Kumral A, Giriş M, Soluk-Tekkeşin M, Olgac V, Doğru-Abbasoğlu S, Türkoğlu Ü, 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* 2016; 35(6): 635-43.
- [7] Saritaş N, Uyanik F, Hamurcu Z. Effects of acute twelve minute run test on oxidative stress and antioxidant enzyme activities. *Afr J Pharm Pharmacol* 2011; 5(9): 1218-22.
- [8] Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaiee A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit* 2004; 10(6): 141-147. [in Persian]
- [9] Tuter G, Kurti S, Serdar M. Interleukin – 1beta and thiobarbitoric reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2001; 72: 883-8.
- [10] Das J, Ghosh J, Manna P, Sil PC. Taurine suppresses doxorubicin-triggered oxidative stress and cardiac apoptosis in rat via up-regulation of PI3-K/Akt and inhibition of p53, p38-JNK. *Biochem Pharmacol* 2011; 81(7): 891-909.
- [11] Indu R, Azhar T, Nair A, Nair CKK. Amelioration of doxorubicin induced cardio-and hepato-toxicity by carotenoids. *J Cancer Res Ther* 2014; 10(1): 62-7.
- [12] Heck SO, Fulco BC, Quines CB, Oliveira CE, Leite MR, Cechella JL, et al. Combined Therapy With Swimming Exercise and a Diet Supplemented With Diphenyl Diselenide Is Effective Against Age-Related Changes in the Hepatic Metabolism of Rats. *J Cell Biochem* 2017; 118(6): 1574-82.
- [13] Peng CC, Chen K-C, Hsieh C-L, Peng RY. Swimming exercise prevents fibrogenesis in chronic kidney disease by inhibiting the myofibroblast transdifferentiation. *PLoS One* 2012; 7(6): e37388.
- [14] Chicco AJ, Hydock DS, Schneider CM, Hayward R. Low intensity exercise training during doxorubicin treatment protects against cardiotoxicity. *J Appl Physiol* 2006; 100 (2): 519-27.
- [15] Lambertucci RH, Levada-Pires AC, Rossoni LV, Curi R, Pithon-Curi TC. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mech ageing Dev* 2006; 128: 267-75.
- [16] Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol* 2012; 590 (5): 1077-84.
- [17] Freyssin C, Verkindt C, Prieur F, Benaich P, Maunier S, Blanc P. Cardiac rehabilitation in chronic heart failure: effect of an 8-week, high-intensity interval training versus continuous training. *Arch Phys Med Rehabil* 2012; 93(8): 1359-64.
- [18] Hakkakdokht E, Salami F, Rajabi H, M. H. The effect of aerobic exercise and vitamin E and C supplementation on GSH and antioxidative enzymes (GPX and SOD) in pregnant rats. *J Olympic* 2011; 19(3): 47-56. [in Persian]
- [19] Songstad NT, Kaspersen K-HF, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. *PloS One* 2015; 10(11): e0143095.
- [20] Razavi BM, Hosseinzadeh H, Movassaghi AR, Imenshahidi M, Abnous K. Protective effect of crocin on diazinon induced cardiotoxicity in rats in subchronic exposure. *Chem Biol Interact* 2013; 203(3): 547-55. [in Persian]
- [21] Qi Y, Chen L, Zhang L, Liu WB, Chen XY, Yang XG. Crocin prevents retinal ischaemia/reperfusion injury-induced apoptosis in retinal ganglion cells through the PI3K/AKT signalling pathway. *Exp Eye Res* 2013; 107: 44-51.
- [22] Bathaie SZ, Mousavi SZ. New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; 50(8): 761-86. [in Persian]
- [23] 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. *Phytomed* 2010; 17(3-4): 227-32.
- [24] Elsherbiny NM, Salama MF, Said E, El-Sherbiny M, Al-Gayyar MM. Crocin protects against doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats through down-regulation of inflammatory and apoptic pathways. *Chem Biol Interact* 2016; 247: 39-48.
- [25] Rezaei R, Nurshahi M, Bigdeli MR, Khodagoli F, Haghparsat A. Effect of eight weeks of continuous and periodic aerobic training on VEGF-A and VEGFR-2 levels of male brain Wistar rats. *J Sports Physiol Phys Activ* 2015; 16: 1213-21. [in Persian]
- [26] Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Mariani D, Rizo-Roca D, Padrão AI, Rocha-Rodrigues S, et al. Physical exercise prior and during treatment reduces sub-chronic doxorubicin-induced mitochondrial toxicity and oxidative stress. *Mitochondrion* 2015; 20: 22-33.
- [27] Ashrafi J, Dabidi Roshan V, Zolfaghazadeh F. Tissue toxicity induced by doxorubicin in rats: protective role of aerobic regular exercise. *J Urmia Med Sci* 2014; 25(4): 353-62. [in Persian]
- [28] Sakr SA, Mahran HA, Lamfon HA. Protective effect of ginger (*Zingiber officinale*) on adriamycin-induced hepatotoxicity in albino rats. *J Med Plants Res* 2011; 5(1): 133-40.
- [29] Kalender Y, Yel M, Kalender S. Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats. The effects of vitamin E and catechin. *Toxicology* 2005; 209: 39-45.
- [30] Yagmurca M, Bas O, Mollaoglu H, Sahin O, Nacar A, Karaman O, et al. Protective effects of

erdosteine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Arch Med Res* 2007; 38: 380-5.

[31] Chatterjee K, Zhang J, Honbo N, Joel SK. Doxorubicin Cardiomyopathy. *Cardiology* 2010; 115: 155-62.

[32] Öz E, İlhan MN. Effects of melatonin in reducing the toxic effects of doxorubicin. *Mol Cell Biochem* 2006; 286: 11-5.

[33] Kavazis AN, Smuder AJ, Min K, Tümer N, Powers SK. Short-term exercise training protects against doxorubicin-induced cardiac mitochondrial damage independent of HSP72. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299: H1515-24.

[34] Tokarska-Schlattner M, Dolder M, Gerber I, Speer O, Wallimann T, Schlattner U. Reduced creatine-stimulated respiration in doxorubicin challenged mitochondria: particular sensitivity of the heart. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1767: 1276-1284.

[35] Eder A, Arriaga E. Capillary electrophoresis monitors enhancement in subcellular reactive oxygen species production upon treatment with doxorubicin. *Chem Res Toxicol* 2006; 19: 1151-9.

[36] Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Mol Med Rep* 2015; 12(2): 2374-82.

[37] Bafghi AF, Homaei HM, MA. A. Effects of high intensity interval training and curcumin supplement on antioxidant enzyme in heart tissue of diabetic rats. *IJDO* 2017; 8(3): 135-41. [in Persian]

[38] Zolfaghazadeh 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. [in Persian]

[39] El-Sayed EM, El-azeem ASA, Afify AA, Shabana MH, Ahmed HH. Cardioprotective effects of Curcuma longa L. extracts against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *J Med Plants Res* 2011; 5(17): 4049-58.

[40] Díaz A, Loewen PC, Fita I, Carpena X. Thirty years of heme catalases structural biology. *Arch Biochem Biophys* 2012; 525(2): 102-10.

[41] Alfonso-Prieto M, Vidossich P, Rovira C. The reaction mechanisms of heme catalases: an atomistic view by ab initio molecular dynamics. *Arch Biochem Biophys* 2012; 525(2): 121-30.

[42] Gedik S, Erdemli ME, Gul M, Yigitcan B, Bag HG, Aksungur Z, et al. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats. *Biomed Pharmacother* 2017; 95: 764-70.

[43] Salahshoor MR. Protective effect of crocin on liver toxicity induced by morphine. *Res Pharm Sci* 2016; 11(2): 120-9. [in Persian]

[44] Vakili A, Eianali MR, Bandegi AR. The protective effects of Saffron against the oxidative damage in a transient model of focal cerebral ischemia in rats. *TUMS* 2011; 405-12. [in Persian]

[45] Azerbaijani MA, Khanmohammadi R, Khorsandi LS, Peeri M. The effect of high intensity training and crocin on oxidative stress in male rats subjected to doxorubicin induction. *Armaghane-danesh* 2019; 23(6): 694-708. [in Persian]

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