

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 فر تحت القای مزمن دوکسوروبیسین

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

خلاصه:

سابقه و هدف: دوکسوروبیسین (Dox) یک آنتی‌بیوتیک آنتراسیکلین است که به طور گسترده‌ای به عنوان عامل شیمی‌درمانی استفاده می‌شود. با این حال، مفیدبودن 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 فر تحت القای مزمن دوکسوروبیسین بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۰ سررت نر نژاد ویستار در گروه‌های کنترل سالم، دوکسوروبیسین (۲ mg/kg در ۷ دوز)، دوکسوروبیسین-کروسین (۲ mg/kg)، دوکسوروبیسین-تمرين و دوکسوروبیسین-کروسین قرار گرفتند. گروه‌های تمرينی به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفت، با تناوب‌های ۲ دقیقه‌ای و با شدت ۸۰-۹۰ درصد سرعت بیشینه دوییدند. سطح مالون دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز در بافت کبدی اندازه‌گیری شد.

نتایج: دوکسوروبیسین باعث افزایش معنی‌داری در سطح مالون دی‌آلدهید و کاهش معنی‌داری در فعالیت سوپراکسیدیسموتاز 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 سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز در نتیجه‌ی دریافت تمرين (در هر دو آنزم، $P=0.001$)، کروسین ($P=0.001$) و ترکیب تمرين و کروسین (در هر دو آنزم، $P=0.001$) در مقایسه با گروه کنترل دوکسوروبیسین شد. همچنین اثر ترکیبی تمرين و کروسین بهتر از اثر هر کدام به تنهایی بود ($P=0.001$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرينات منظم تناوبی شدید، کروسین و ترکیب این دو می‌تواند با کاهش استرس اکسیداتیو، اثرات محافظظی در برابر سمیت کبدی ناشی از دوکسوروبیسین داشته باشد.

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

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

مقدمه

سیستم دفاع آنزیماتیک شامل آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (Cat) و سوپراکسیدیسموتاز (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 Cu^{2+} , Fe^{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 لپید پراکسیدهای ناپایدار و واکنش‌گر می‌شود. یکی از مهم‌ترین محصولات حاصل از پراکسیداسیون لپیدهای مالون دی‌آلدهید می‌باشد (MDA) که بسیار مورد توجه بوده، به عنوان نشانگر اصلی استرس اکسیداتیو محسوب می‌شود [۹, ۱۰]. استراتژی‌های مختلفی جهت کاهش اثرات سمی دوکسوروبیسین بر بافت‌های غیر هدف به کار گرفته شده است که از این‌ین می‌توان به استفاده از گیاهان دارویی [۱۱]، رژیم غذایی [۱۲] و نیز انواع مختلف تمرينات طولانی مدت [۱۳, ۱۴] با هدف افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی بافت اشاره کرد. در زمینه تأثیر فعالیت بدنی بر استرس اکسیداتیو و پیشگیری یا درمان سمیت بافتی ناشی از دوکسوروبیسین، بیشتر پژوهش‌ها بر تأثیر تمرين هوایی تداومی (شنا، چرخ دوار، دوییدن روی نوار

امروزه سرطان به عنوان 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 پرتو درمانی 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 شده است [۴, ۵]. هرچند مکانیزم‌های مسؤول سمیت ناشی از دوکسوروبیسین به وضوح مشخص نیست، بیشتر شواهد حاکی از این است که این آسیب ممکن است با پراکسایشی لپیدی و تولید رادیکال‌های آزاد مرتب باشد [۶, ۵].

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

* لشان نویسنده مسئول؛
تلفن: ۰۹۱۶۳۱۴۳۳۶۳۱؛
۰۶۱ ۳۳۳۳۳۶۳۱

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 ۲۰۰-۲۲۰ 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 تهییه 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. به منظور آشایی 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 شب صفر درجه و به مدت ۵-۱۰ دقیقه انجام شد. بعد از دو هفته آشاسازی با محیط و نحوه انجام فعالیت، موش‌های صحرایی به روش تصادفی در ۵ گروه (n=۸)، کنترل سالم (سالین)، کنترل بیمار (دوکسوروبیسین mg/kg، ۲ در ۷ دوز)، دوکسوروبیسین-کروسین (mg/kg، ۲ دوکسوروبیسین+تمرین، دوکسوروبیسین+تمرین+کروسین) قرار گرفتند. کلیه موazین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این تحقیق براساس موazین اخلاقی مصوب با استانداردهای اخلاقی در IRSSRC.REC.1397.005 رعایت شد. برنامه تمرینی شامل دویدن روی نوار گردان بدون شب، ویژه‌ی جوندگان، به صورت تناوب‌های دو دقیقه‌ای، در ۸ هفته و هر هفته به مدت پنج روز اجرا شد. مرحله گرم‌کردن و سرد کردن در ابتدا و انتهای مرحله اصلی تمرین با شدت ۴۰-۵۰ درصد سرعت پیشینه (۱۶-۲۰ متر در دقیقه) به مدت 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 هوایی و استقامتی مقاومت بافتی را در برابر حرکت‌های 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 باشد متوسط سازگاری‌های فیزیولوژیکی قابل توجهی ایجاد می‌کند [۱۷، ۱۶]. در مقابل، نتایج بعضی پژوهش‌ها نشان داده که به دنبال فعالیت‌های بدنی شدید با افزایش گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و شاخص پراکسیداسیون لبیدی از جمله مالون دی‌آلدهید و عدم تعادل بین فشار اکسایشی و دفاع ضد اکسایشی منجر به کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام می‌شود [۱۸]. مشخص شده بعد از ۶ هفته تمرین ایتروال شدید، تفاوت معنی‌داری در میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی و مالون دی‌آلدهید بافت کبد و قلب رت‌های باردار، مشاهده نشده است [۱۹]. در زمینه به کارگیری گیاهان دارویی با خاصیت درمانی و آنتی اکسیدانی 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، کروستین و سافرانال می‌باشد که از بین اجزای فعال آن، کروسین عامل اصلی فعالیت‌های متعدد فارماکولوژیک آن است [۲۱]. کروسین (Crocin) یکی از مهم‌ترین کاروتوئیدهای زعفران و عامل ایجاد‌کننده رنگ زعفران می‌باشد. از جمله خواص کروسین می‌توان به آثار ضد آتروژنی و ضد لخته، محافظت‌کننده سیستم عصبی و نورومن‌ها ... اشاره کرد [۲۲]. مشخص شده است که کروسین موجود در زعفران، قلب موش‌های صحرایی را در برابر اثرات توکسیک ایزوپروترنول (Isoproterenol) از طریق تعدیل تنش های اکسیداتیو محافظت می‌کند [۲۳]. همچنین نشان داده شده است کروسین، سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین را با تنظیم منعکس مسیرهای التهابی و آپوپتیک در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد [۲۴]. با توجه به نتایج متناقض تحقیقات در زمینه تأثیر تمرین تناوبی شدید بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و تأثیر تمرینات تناوبی شدید به تنهایی 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 سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز بافت

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

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

جدول شماره ۱- پروتکل تمرین تناوبی آزمودنی‌ها در هفته‌های مختلف

سردکردن	بدنه اصلی تمرین	گرم کردن	مراحل تمرین
ابتدای هفته چهارم به ۴۰-۵۰ درصد سرعت پیشینه	هفته سوم	هفته دوم	شدت تمرین
بعد	۹۰ درصد سرعت	۸۵ درصد سرعت	سرعت پیشینه
	پیشینه	پیشینه	مدت تمرین
با تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت بالا- سه شدت بالا- ۷ تکرار شدت بالا- ۴۰ درصد	۶ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت بالا- ۵ تکرار شدت بالا- سه شدت بالا- ۷ تکرار شدت بالا- ۴۰ درصد	۴ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت بالا- ۵ تکرار استراحت فعال	۵ دقیقه
۴ دقیقه	۳۲ دقیقه	۲۴ دقیقه	۱۶ دقیقه

و توزین وزن، بلافاصله در فریزر با دمای -۷۰ درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری سطوح مالون دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیدازدیسموتاز و کاتالاز قرار گرفت.
آنالیز بیوشیمیایی

در ابتدای نمونه‌های بافت از فریزر خارج شده، جهت آماده‌سازی نمونه هر ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لتر بافر فسفات نمکی حاوی کوکتل آنتی‌پروتاز (ساخت شرکت Gold bio آمریکا) توسط هموژنایزر، هموژن شده و سپس بافت هموژرات در ۱۰۰۰۰ Rcf برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ 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 دی‌آلدهید به روش Lapenna و همکاران و باستفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Unico S2100 ساخت کشور آمریکا و کیت مخصوص اندازه‌گیری شد. اساس روش اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید بر پایه واکنش با تیوبایستوریک اسید، استخراج با بوتائل نرمال ($C_4H_{10}O$)، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفوتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد در طول موج ۵۳۲ نانومتر استوار بود [۲۸]. فعالیت آنزیم سوپراکسیدازدیسموتاز توسط کیت تحقیقاتی، با ضریب تغییرات ۴/۷ و حساسیت ۱ میکرومول به روش رنگ‌سنگی 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 به روش رنگ‌سنگی آنزیمی) و در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

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 حل شده در حجمی معادل ml/kg نرمال‌سالین، به مدت ۸ ساعت به صورت خوراکی (گواژ) دریافت کردند. گروه‌های کنترل سالم و بیمار هم به همان میزان نرمال‌سالین، به صورت گواژ دریافت کردند [۲۶]. تهیه و تزریق داروی دوکسوروپیسین و سالین: داروی دوکسوروپیسین از شرکت بلژیکی Ebeve خریداری شد و سپس برای تهیه دوز مورد نظر، ۷ دوز ۲ mg/kg (دوز تجمیعی kg ۱۴) با نرمال‌سالین رقیق شد. دوکسوروپیسین به میزان موردنظر به وسیله سرنگ انسولینی به صورت 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 با توجه به اثرات احتمالی ناشی از تزریق در گروه‌های دریافت‌کننده دوکسوروپیسین، به منظور یکسان‌سازی شرایط برای همه آزمودنی‌ها و ختنی‌نمودن اثر تزریق، گروه کنترل سالم نیز به همان میزان سالین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) دریافت کرد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شباهنروزی تمام تزریقات همگن و حدود ساعت ۱۰ صبح صورت گرفت [۲۷].

بافت برداری: ۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین موش‌ها و پس از ناشتاپی شباهنروزی انجام شد. در ابتدای حیوان با ترکیبی از داروی کتابین و زایلازین (به ترتیب ۹۰ و ۱۰ mg/kg) به صورت تزریق درونصفاقی بیوهش شد و پس از شکافتن حفره شکمی، بافت کبد به دقت جدا شد و پس از شستشو با آب مقطر

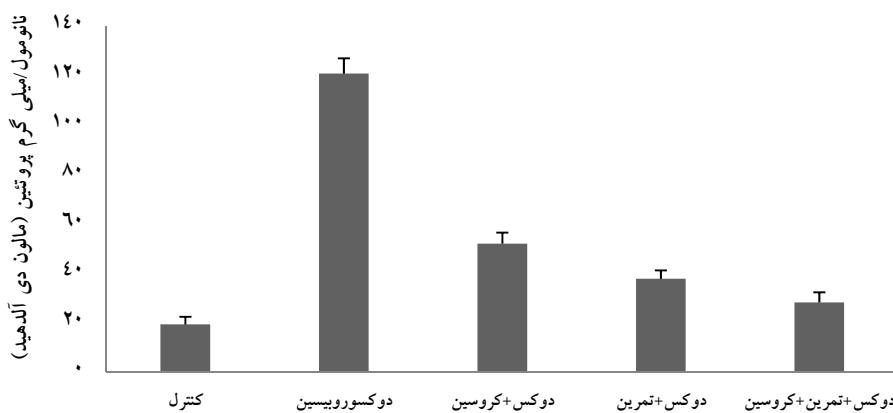
تعقیبی توکی نشان داد میزان فعالیت سوپراکسیدیسموتاز در گروه کنترل سالین به طور معنی داری بالاتر از گروه های دوکسورو بیسین، دوکسورو بیسین + کروسین، دوکسورو بیسین + تمرین و دوکسورو بیسین + کروسین + تمرین ($P<0.001$) بود. همچنین میزان فعالیت سوپراکسیدیسموتاز در گروه دوکسورو بیسین به طور معنی داری پایین تر از گروه های دوکسورو بیسین + کروسین، دوکسورو بیسین + کروسین + تمرین بود ($P<0.001$). همچنین میزان فعالیت سوپراکسیدیسموتاز در گروه دوکس + کروسین به طور معنی داری پایین تر از گروه های دوکسورو بیسین + تمرین و دوکسورو بیسین + کروسین + تمرین ($P<0.001$) بود. به علاوه میزان فعالیت سوپراکسیدیسموتاز در گروه دوکسورو بیسین + تمرین به طور معنی داری پایین تر از گروه دوکسورو بیسین + کروسین + تمرین بود ($P<0.001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد میزان فعالیت کاتالاز در گروه کنترل سالین به طور معنی داری بالاتر از گروه های دوکسورو بیسین، دوکسورو بیسین + تمرین و دوکسورو بیسین + کروسین، دوکسورو بیسین + تمرین بود. همچنین میزان فعالیت کاتالاز در گروه دوکسورو بیسین به طور معنی داری پایین تر از گروه های دوکسورو بیسین + کروسین، دوکسورو بیسین + تمرین و دوکسورو بیسین + کروسین + تمرین بود ($P<0.001$). همچنین میزان فعالیت کاتالاز در گروه دوکس + کروسین به طور معنی داری پایین تر از گروه های دوکسورو بیسین + تمرین و دوکسورو بیسین + کروسین، دوکسورو بیسین + تمرین بود ($P<0.001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطح مالون دی آلدھید در گروه کنترل سالین به طور معنی داری پایین تر از گروه های دوکسورو بیسین، دوکسورو بیسین + کروسین، دوکسورو بیسین + تمرین ($P<0.001$) و دوکسورو بیسین + کروسین + تمرین ($P<0.001$) بود. همچنین سطح مالون دی آلدھید در گروه دوکس سوروبیسین به طور معنی داری بالاتر از گروه دوکسورو بیسین + کروسین، دوکسورو بیسین + تمرین و دوکسورو بیسین + کروسین + تمرین بود ($P<0.001$). همچنین سطح مالون دی آلدھید در گروه دوکس سوروبیسین + کروسین + تمرین به طور معنی داری بالاتر از گروه دوکس سوروبیسین + کروسین + تمرین بود ($P<0.001$). نتایج آزمون دوکس سوروبیسین + کروسین + تمرین بود ($P<0.001$).

تحلیل آماری

جهت بررسی طبیعی بودن داده ها و تجانس واریانس گروه ها به ترتیب از آزمون های شاپیر وولک و لوین استفاده شد. همچنین برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه همراه با مقایسه میانگین های توکی در نرم افزار SPSS ویرایش ۲۱ استفاده شد ($P<0.05$).

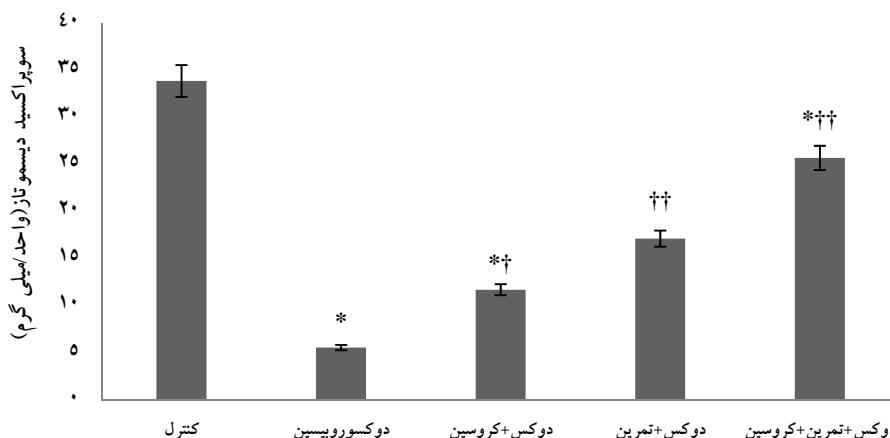
نتایج

سطح مالون دی آلدھید و میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز در شکل های شماره ۱، ۲ و ۳ گزارش شده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد تفاوت معنی داری در سطوح مالون دی آلدھید ($P<0.001$) و ($F=580/808$) و میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز ($P<0.001$) و کاتالاز ($F=115/266$) و ($P<0.001$) ($F=217/211$) موش های صحرابی گروه های تحقیق وجود داشت. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطح مالون دی آلدھید در گروه کنترل سالین به طور معنی داری پایین تر از گروه های دوکسورو بیسین، دوکسورو بیسین + کروسین، دوکسورو بیسین + تمرین ($P<0.001$) و دوکسورو بیسین + کروسین + تمرین ($P<0.001$) بود. همچنین سطح مالون دی آلدھید در گروه دوکس سوروبیسین به طور معنی داری بالاتر از گروه دوکسورو بیسین + کروسین، دوکسورو بیسین + تمرین و دوکسورو بیسین + کروسین + تمرین بود ($P<0.001$). همچنین سطح مالون دی آلدھید در گروه دوکس سوروبیسین + کروسین + تمرین به طور معنی داری بالاتر از گروه دوکس سوروبیسین + کروسین + تمرین بود ($P<0.001$). نتایج آزمون دوکس سوروبیسین + کروسین + تمرین بود ($P<0.001$).



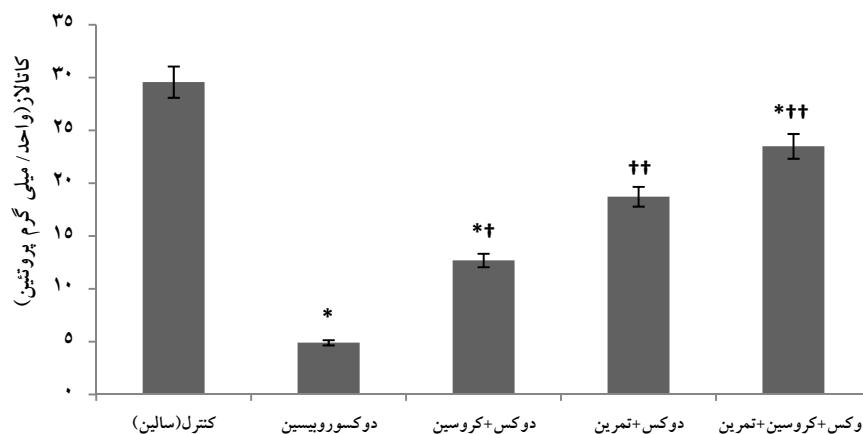
شکل شماره ۱- تغییرات میزان مالون دی آلدھید در گروه های پنج گانه تحقیق

* افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین)، ** کاهش معنی دار نسبت به گروه دوکسورو بیسین، *** کاهش معنی دار نسبت به گروه دوکسورو بیسین + کروسین و گروه دوکسورو بیسین، **** کاهش معنی دار نسبت به گروه دوکسورو بیسین، دوکسورو بیسین + کروسین و گروه دوکسورو بیسین + تمرین



شکل شماره ۲- تغییرات میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در گروههای پنج گانه تحقیق

* کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین)، † کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی دار نسبت به گروه دوکسوروبیسین، ‡ کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی دار نسبت به گروههای دوکسوروبیسین، دوکسوروبیسین+کروسین، †† کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی دار نسبت به گروههای دوکسوروبیسین، دوکسوروبیسین+کروسین و دوکسوروبیسین+تمرین.



شکل شماره ۳- تغییرات میزان فعالیت کاتالاز در گروههای پنج گانه تحقیق

* کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین)، † کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی دار نسبت به گروه دوکسوروبیسین، ‡ کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی دار نسبت به گروههای دوکسوروبیسین، دوکسوروبیسین+کروسین، †† کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (سالین) و افزایش معنی دار نسبت به گروههای دوکسوروبیسین، دوکسوروبیسین+کروسین و دوکسوروبیسین+تمرین.

دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کنترل سالم (سالین) مشاهده شد. در تحقیق حاضر کاهش مقادیر SOD متعاقب القای دوکسوروبیسین با دوز تجمعی مشاهده شد و این کاهش با افزایش مقادیر MDA قرین شده بود. این نتیجه با یافته های اشرفی و همکاران [۲۷] و Sakr [۲۸] همسو می باشد. نتایج مطالعات گذشته، استرس اکسایشی را عامل اصلی مسمومیت DOX در کبد معروفی کرده اند [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 دوکسوروبیسین در یافته های غیرهدف پیشنهاد شده است. دوکسوروبیسین همراه کار迪ولیپین اتصال کرتین کیناز به غشای داخلی میتوکندریایی را بلوکه می کند و

بحث

هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف خواراکی کروسین بر میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی مالون دی آلدھید و فعالیت آنزیم های آنتی- اکسیدانی بافت کبد (کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز) رت های نر قرار گرفته در معرض القای مزمن دوکسوروبیسین بود. یافته های این مطالعه نشان دهنده اختلال در سطوح و عملکرد شاخص های آنتی اکسیدانی و اکسیدانی بافت کبد در موش های صحرایی قرار گرفته در معرض القای مزمن دوکسوروبیسین می باشد. در این مطالعه، افزایش معنی داری در سطح شاخص اکسیداتیو، مالون دی آلدھید، و کاهش معنی داری در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز بافت کبد گروه دریافت کننده

اکسیژن به بیش از بیست برابر حالت استراحت و بالارفتن جریان اکسیژن به داخل زنجیره‌ی انتقال الکترون در زمان فعالیت بدنی، موجب رهاسازی رادیکال سوپراکسیدیسموتاز این زنجیره می‌شود. در این زمان آنزیم سوپراکسیدیسموتاز این رادیکال را به رادیکال آزاد ضعیفترازی به نام پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. برای این عمل سوپراکسید دیسموتاز سیتوپلاسمی نیز در دسترس است. در ادامه آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز اثرات سمی پراکسید هیدروژن را حذف می‌کنند [۳۸، ۳۹]. 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 I (porphyrin⁻-Fe4+^{=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 فعال شدن اوئلین و دومین سدّ دفاعی در مقابل استرس اکسایشی ناشی از دوکسوروویسین باشد. یافته دیگر پژوهش حاضر نشان داد ۸ هفته مصرف کروسین باعث کاهش معنی‌دار در غلظت مالون دی‌آلدهید و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در مقایسه با گروه کنترل دوکسوروویسین شد. هرچند تاکنون تأثیر تمرینات تناوبی شدید بر استرس اکسیداتیو بافت کبد در مدل‌های سالم و بیمار بررسی نشده است، اما در راستای نتایج پژوهش Lü و همکاران با بررسی رت‌هایی که تحت القای سکته قلبی قرار گرفته بودند و به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته و با تناوب‌های شدید ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۰-۹۵ درصد حداقل اکسیژن مصرفی و به مدت ۴۰ دقیقه در هر جلسه تمرین تناوبی انجام دادند، کاهش معنی‌داری در غلظت سوپراکسیدیسموتاز و گلوتاتیون افزایش معنی‌داری در غلظت سوپراکسیدیسموتاز پراکسیداز نشان دادند [۳۶]. همچنین همسو با نتایج این پژوهش، بافقی و همکاران نشان دادند هشت هفته تمرین تناوبی در تناوب‌های ۳ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی و به مدت ۲۰ دقیقه در هر جلسه، به همراه مصرف مکمل کورکومین سطوح فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز را به طور معنی داری افزایش می‌دهد [۳۷]. در زمینه پاسخ آنزیم‌های ضدآکسایشی 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 خشی 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، سوپراکسیدیسموتاز به عنوان آنزیمی کلیدی، در اوئلین مرحله‌ی حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد. افزایش مصرف

فعالیت آنزیم‌های مهم میتوکندریالی وابسته به کاردیولپین را کاهش می‌دهد. به علاوه، تجمع مولکول‌های دوکسوروویسین در میتوکندری با مجموعه‌ی I از زنجیره‌ی انتقال الکترون، جایی که یک الکترون به دوکسوروویسین انتقال می‌یابد، به شروع به کار چرخه‌ی ردوکس می‌انجامد [۳۴]. دوکسوروویسین وارد میتوکندری می‌شود و برای تشکیل شکل رادیکال واسطه‌ی نیمه کوئینون، با مجموعه میتوکندریالی واکنش می‌دهد. این شکل نیمه کوئینون دوکسوروویسین با اکسیژن واکنش داده، گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS) را تولید می‌کند. ROS با مولکول‌های زیستی میتوکندری مجاور، شامل چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش DNA می‌دهد. مشخص شده است که دوکسوروویسین با 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 دی‌آلدهید و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در مقایسه با گروه کنترل دوکسوروویسین شد. هرچند تاکنون تأثیر تمرینات تناوبی شدید بر استرس اکسیداتیو بافت کبد در مدل‌های سالم و بیمار بررسی نشده است، اما در راستای نتایج پژوهش حاضر، Lü و همکاران با بررسی رت‌هایی که تحت القای سکته قلبی قرار گرفته بودند و به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته و با تناوب‌های شدید ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۰-۹۵ درصد حداقل اکسیژن مصرفی و به مدت ۴۰ دقیقه در هر جلسه تمرین تناوبی انجام دادند، کاهش معنی‌داری در غلظت مالون دی‌آلدهید و افزایش معنی‌داری در غلظت سوپراکسیدیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز نشان دادند [۳۶]. همچنین همسو با نتایج این پژوهش، بافقی و همکاران نشان دادند هشت هفته تمرین تناوبی در تناوب‌های ۳ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی و به مدت ۲۰ دقیقه در هر جلسه، به همراه مصرف مکمل کورکومین سطوح فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز را به طور معنی داری افزایش می‌دهد [۳۷]. در زمینه پاسخ آنزیم‌های ضدآکسایشی 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 خشی 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، سوپراکسیدیسموتاز به عنوان آنزیمی کلیدی، در اوئلین مرحله‌ی حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد. افزایش مصرف

دی‌آلدهید کاهش و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیدیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در گروه کروسین و تمرين در مقایسه با گروه دیابتی درمان‌نشده افزایش یافته است. علاوه‌بر 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 تنها ای افزایش داد [۶]. از نقاط قوت تحقیق، قابل کنترل بودن زمان تمرينات، در دسترس بودن وسائل و امکانات مورد نیاز و از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به تمرين اجباری، خوراندن اجباری کروسین و عدم کنترل تأثیر داروهای بیهوشی بر روی آزمودنی‌ها اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که هشت هفته تمرين تناوبی باشد بالا، مصرف کروسین و استفاده ترکیبی از این دو، می‌تواند سطوح افزایش بافت شاخص اکسایشی (مالون دی‌آلدهید) ناشی از القای مزمن دوکسوروبیسین بافت کبد رتها را کاهش و سطوح فعالیت برخی از شاخص‌های سیستم دفاع ضدآکسایشی (سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز) را افزایش دهد. از این‌رو، براساس یافته‌های تحقیق حاضر احتمالاً می‌توان از فواید تمرينات تناوبی شدید، مکمل کروسین و بهویژه ترکیب تمرين و کروسین که راهکار کنترلی در برابر آثار سمتی کبدی ناشی از القای دوکسوروبیسین است، استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد شوستر می‌باشد. نویسنده‌گان 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 سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز نشان‌دهنده سازش مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی است که مسئول جلوگیری از آسیب بافتی و تشکیل رادیکال آزاد ناشی از افزایش پراکسیداسیون لیپید است. در پژوهشی دیگر عنوان شد کروسین، غلظت بافتی مالون دی‌آلدهید را در بافت ایسکمیک کورتکس مغز به طور معنی‌داری کاهش و میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیدیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را به طور 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 [۴]. یافته دیگر پژوهش حاضر که نقطه قوت این پژوهش هم می‌باشد، این بود که ترکیب تمرين تناوبی شدید و کروسین منجر به کاهش بیشتر در سطوح شاخص اکسایشی مالون دی‌آلدهید و افزایش بیشتر در فعالیت آنزیم‌های ضدآکسایشی سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز در مقایسه با گروه کنترل دوکسوروبیسین و گروه‌های دیگر تجربی شد؛ به طوری که تمرين تناوبی شدید و کروسین در ترکیب با هم اثر هم‌افزایی داشته، نسبت به هر کدام از این مداخله‌ها به تنها ای مؤثرتر بود. این یافته، نشان‌دهنده این است که استفاده از مکمل کروسین در کنار تمرينات تناوبی شدید، نسبت به انجام تمرينات تناوبی و مصرف کروسین به تنها ای، اثرات بهتر و بیشتری بر پیشگیری و کاهش عوارض کبدی ناشی از درمان بهویله دوکسوروبیسین دارد. در این راستا گزارش شد ترکیب کروسین و تمرين تناوبی شدید در برابر استرس اکسیداتیو بافت قلب رتها در معرض القای دوکسوروبیسین را محافظت می‌کند و باعث کاهش معنی‌دار سطوح مالون دی‌آلدهید و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های ضدآکسایشی سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز شد [۵]. همچنین در تحقیق دیگری گزارش شده است ترکیب کروسین و تمرين تناوبی شدید در برابر استرس اکسیداتیو بافت قلب رتها 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, Uyanık 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, Benaiach 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, Hosseini-zadeh 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] Bathae 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 apoptotic pathways. *Chem Biol Interact* 2016; 247: 39-48.
- [25] Rezaei R, Nurshahi M, Bigdeli MR, Khodagoli F, Haghparast 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, Zolfagharpourzadeh 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. *IJD* 2017; 8(3): 135-41. [in Persian]
- [38] Zolfaghharzadeh 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] Diaz 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]