

Effects of Six Weeks of Continuous Training With and Without Nanocurcumin Supplementation on Doxorubicin-induced Hepatotoxicity in an Aging Rat Model

Amir Hossein Javid¹, Valiollah Dabidi Roshan^{2*}

1- M.Sc. Student, Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran

2- Professor, Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran

**Corresponding Address: Postal Code: 13534-47416, Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran
Email: vdabidiroshan@yahoo.com*

Received: 14/Sep/2016, Accepted: 08/Feb/2017

Abstract

Objective: There are numerous strategies to prevent hepatotoxicity caused by doxorubicin therapy. These strategies include exercise as well as herbal antioxidants such as curcumin to reduce the toxic effects of doxorubicin. This study aims to evaluate the effects of six weeks of continuous training with and without nanocurcumin supplementation on doxorubicin-induced hepatotoxicity in an aging rat model.

Methods: We randomly divided 42 Wistar male rats into 7 groups: control saline, control doxorubicin, nanocurcumin + doxorubicin, nanocurcumin + saline, continuous training + doxorubicin, continuous training + saline, and continuous training + nanocurcumin + doxorubicin. The rats received intraperitoneal injections of D-galactose (100 mg/kg) to induce ageing. The training groups ran on a treadmill for six weeks, five days per week with a gradual increase from 25 min/day to 54 min/day at a velocity of 15 m/min to 20 m/min. In the last fifteenth days, rats scheduled to received doxorubicin had a cumulative dose of 15 mg/kg of body weight (daily: 1 ml/kg). Nanocurcumin supplement (daily: 100 mg/kg body weight) was administered to the respective groups. Assessment and analysis were conducted after homogenization of the liver tissue biopsy.

Results: Doxorubicin caused a significant decrease in glutathione peroxidase and a slight increase in malondialdehyde in the liver. On the other hand, continuous training with doxorubicin treatment prevented the decrease of glutathione peroxidase and increase in malondialdehyde in the liver that was caused by doxorubicin. Also, six weeks of continuous training with nanocurcumin supplementation caused a significant decrease in malondialdehyde and increased glutathione peroxidase in the liver compared to the control doxorubicin group.

Conclusion: Based on the results, the combination of nanocurcumin supplementation and continuous training in the doxorubicin-induced aging rat model have led to a precautionary effect and up-regulation of antioxidant defense. Continuous training appeared to have more beneficial effects than nanocurcumin supplementation in reducing doxorubicin-induced hepatotoxicity.

Keywords: Nanocurcumin, Training, Aging, Hepatotoxicity, Doxorubicin

اثر شش هفته تمرین تداومی با و بدون مکمل نانوکورکومین بر سمیت کبدی متعاقب القای دوکسوروبیسین در موش‌های آزمایشگاهی بزرگ مدل سالمندی

امیرحسین جاوید^۱، ولی الله دیدی روشن^{۲*}

۱- کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲- استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، بابلسر، کدپستی: ۴۷۴۱۶-۱۳۵۳۴، دانشگاه مازندران، دانشکده تربیت بدنی، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: vdabidiroshan@yahoo.com

پذیرش مقاله: ۹۵/۱۱/۲۰

دریافت مقاله: ۹۵/۰۶/۲۴

چکیده

هدف: برای پیشگیری از سمیت کبدی ناشی از درمان با دوکسوروبیسین راه کارهای زیادی پیشنهاد شده است؛ برخی از محققین از تمرینات ورزشی و برخی دیگر استفاده از آنتی اکسیدانتهای گیاهی نظیر کورکومین را در کاهش آثار سمی دوکسوروبیسین به کار برده اند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر شش هفته تمرین تداومی با و بدون مکمل نانوکورکومین بر سمیت کبدی متعاقب القای دوکسوروبیسین در موش‌های آزمایشگاهی بزرگ مدل سالمندی بود.

مواد و روش‌ها: ۴۲ سر موش آزمایشگاهی بزرگ نر، به طور تصادفی به ۷ گروه: کنترل سالین، کنترل دوکسوروبیسین، نانوکورکومین+دوکسوروبیسین، نانوکورکومین+سالین، تمرین تداومی+دوکسوروبیسین، تمرین تداومی+سالین و تمرین تداومی+نانوکورکومین+دوکسوروبیسین تقسیم شدند. سالمندسازی به وسیله تزریق درون صفاقی محلول دی گلاکتوز (۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) ایجاد شد. گروه‌های تمرین به مدت شش هفته، پنج جلسه در هفته به صورت پیشرونده به مدت ۲۵-۵۴ دقیقه در روز با سرعت ۲۰-۱۵ متر در دقیقه، روی نوارگردان دویدند. در ۱۵ روز انتهایی برنامه تمرین، دوز تجمعی ۱۵ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دوکسوروبیسین (هر روز ۱ میلی لیتر/کیلوگرم) تزریق و مکمل نانوکورکومین (۱ میلی گرم روزانه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به گروه‌های مربوطه خوراندند. سنجش شاخص‌های تحقیق پس از بافت برداری و پودر کردن بافت کبد انجام شد.

نتایج: دوکسوروبیسین موجب کاهش معنی دار گلو تاتیون پراکسیداز بافت کبد و افزایش جزئی مالون دی آلدیید شد. از طرفی انجام تمرین تداومی به همراه درمان دوکسوروبیسین، از کاهش گلو تاتیون پراکسیداز و افزایش مالون دی آلدیید بافت کبد ناشی از تزریق دوکسوروبیسین پیشگیری کرد. همچنین شش هفته تمرین تداومی به همراه مکمل نانوکورکومین موجب کاهش مالون دی آلدیید و افزایش معنی دار گلو تاتیون پراکسیداز بافت کبد نسبت به گروه دوکسوروبیسین شد. **نتیجه گیری:** بر اساس نتایج، ترکیب مکمل نانوکورکومین و تمرین تداومی در موش‌های سالمند درمان شده با دوکسوروبیسین، منجر به اثر پیشگیرانه و تنظیم افزایشی دفاع آنتی اکسیدانته می شود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده آثار مفیدتر تمرین تداومی نسبت به مصرف مکمل نانوکورکومین در کاهش سمیت کبدی ناشی از القای داروی دوکسوروبیسین است.

کلیدواژگان: نانوکورکومین، تمرین تداومی، سالمندی، سمیت کبدی، دوکسوروبیسین

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۱۹، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۵، صفحات: ۱-۱۲

دوکسوروبیسیین (Doxorubicin) یکی از مؤثرترین آنتراسایکلین‌های رایج است که به عنوان داروی ضد توموری در درمان انواع سرطان استفاده می‌شود. با این وجود استفاده از آن موجب مضرات جانبی از جمله سمیت کبدی می‌شود. با توجه به این‌که متابولیزه شدن و دریافت غلظت بالای دوکسوروبیسیین توسط کبد انجام می‌شود، این بافت را در برابر آسیب مستعد می‌کند [۱]. استراتژی‌های متعددی با هدف پیشگیری از سمیت کبدی ناشی از درمان با دوکسوروبیسیین توسعه یافته است؛ از این بین، بسیاری از مطالعات اخیر توجه خود را بر آثار درمانی تمرینات استقامتی، به عنوان استراتژی غیر دارویی در کاهش سمیت دوکسوروبیسیین معطوف ساخته است [۱-۳]. از سوی دیگر؛ در سال‌های اخیر در کنار فعالیت‌های ورزشی، استفاده از آنتی اکسیدان‌های گیاهی برای درمان‌های غیر دارویی مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است که از این بین می‌توان به کورکومین (Curcumin) عامل اصلی زرد رنگ تشکیل دهنده چاشنی زردچوبه اشاره کرد که به گونه‌ای خالص از گیاه کورکوما لونگا (*Curcuma longa*) استخراج می‌شود [۴]. بسیاری از محققان به آثار سودمند درمانی آنتی اکسیدانی [۵]، ضد التهابی [۶] و فعالیت‌های ضد سرطانی کورکومین [۷] اشاره کرده‌اند. همچنین نشان داده شده است که کورکومین دارای خواص کاهشی در مقابله با رادیکال سوپراکسید (Superoxide radical)، رادیکال هیدروکسیل (Hydroxyl radical) و اکسیژن تک‌ای است [۵]. با این وجود، متابولیسم، جذب و دسترسی زیست محیطی ضعیف کورکومین به عنوان مشکل اساسی بر سر راه استفاده از کورکومین شناخته شده است. برخی مطالعات نشان داده‌اند که نانو ذرات کورکومین بارگیری شده در سرم آلبومین انسانی (HAS) بدون تحریک اثر سمیت، آثار درمانی بیشتری نسبت به کورکومین دارند و به همین دلیل در راستای افزایش

اثر تمرین ورزشی و نانوکورکومین بر سمیت کبدی

دسترسی زیست محیطی کورکومین، فرمول‌های مختلف نانوذرات برای افزایش پتانسیل حلالیت کورکومین فراهم شده است [۸، ۹]. در مطالعه حاضر نیز برای اولین بار از مکمل نانوکورکومین (Nanocurcumin) به همراه برنامه تمرین تداومی بر سمیت کبدی متعاقب القای دوکسوروبیسیین در موش‌های مدل سالمندی استفاده شده است.

گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase) آنزیمی وابسته به سلنیوم (Selenium) بوده که در غشای چربی و هموگلوبین و اریتروسیت‌ها (Erythrocytes) وجود دارد. گلوتاتیون پراکسیداز، پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند و برای این واکنش از گلوتاتیون به عنوان دهنده الکترون استفاده می‌کند. این آنزیم نقش مهمی در مهار پراکسیداسیون لیپید و جلوگیری از آسیب به DNA و RNA ایفا می‌کند [۱۰]. مالون‌دی‌آلدیید (Malondialdehyde: MDA) رایج‌ترین روش برای مشخص کردن آسیب اکسیداتیو است و مطالعات بی شماری افزایش در MDA را به دنبال ورزش گزارش کرده است [۱۱، ۱۲]. در مقابل برخی از مطالعات یک افزایش در فعالیت آنتی اکسیدانی را پس از یک برنامه تمرینات استقامتی تعیین کرده است [۱۳، ۱۴]. از آنجایی که بیشتر تحقیقات روی آزمودنی‌های جوان انجام شده و با توجه به این‌که افزایش عدم تعادل اکسیدان/آنتی اکسیدانی می‌تواند با افزایش سن رخ دهد، این عامل می‌تواند در زمینه تعادل استرس اکسایشی به عنوان یک عامل با اهمیت در نظر گرفته شود [۱۵]. بنابراین با توجه به این‌که تاکنون مطالعه‌ای در مورد تأثیر فعالیت ورزشی به همراه مکمل آنتی اکسیدانی نانوکورکومین، در موش‌های مدل سالمندی انجام نشده است؛ هدف این مطالعه بررسی اثر پیشگیرانه ۶ هفته تمرین تداومی با و بدون مکمل نانو کورکومین بر سمیت کبدی متعاقب القای دوکسوروبیسیین در موش‌های آزمایشگاهی بزرگ مدل سالمندی بود.

مواد و روش‌ها

۴۲ سر موش آزمایشگاهی بزرگ نر نژاد ویستار (Wistar) ۱۲ هفته‌ای با میانگین وزنی (260 ± 10 گرم) از انستیتو پاستور خریداری و در آزمایشگاه جانوری در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و در اتاقی با ویژگی‌های اتمسفری (دمای ۲۱-۲۲ درجه سانتی‌گراد، ۵۰-۶۰ درصد رطوبت) و با چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد پلت ساخت شرکت بهپور (ایران) داشتند. آزمودنی‌ها پس از توزین و آشنایی یک هفته‌ای با محیط جدید به‌طور تصادفی به ۷ گروه ۶ تایی: سالین، دوکسوروبیسین، نانوکورکومین + دوکسوروبیسین، نانوکورکومین + سالین، تمرین تداومی + دوکسوروبیسین، تمرین تداومی + سالین و تمرین تداومی + نانوکورکومین تقسیم شدند. در پژوهش حاضر، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات مطابق با رهنمودهای انجمن فیزیولوژی آمریکا که مصوب کمیته اخلاق دانشگاه مازندران است، رعایت شد.

برای ایجاد مدل سالمندی، از روش القای زیرصفافی محلول دی‌گالاکتوز (Sigma، آلمان) محلول در نرمال سالین ۰/۹ درصد [۱۵]، به مدت ۹ هفته و به گونه‌ای که پس از وزن‌کشی هفتگی و محاسبه میانگین وزنی، القای روزانه ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انجام شد.

در هفته چهارم برای سازگار شدن با نحوه انجام برنامه، آزمودنی‌های گروه‌های تمرین تداومی برنامه ۵ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۵ تا ۸ متر در دقیقه، شیب صفر درصد و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه را انجام دادند. سپس برنامه تمرین هوازی تداومی ۶ هفته‌ای با رعایت اصل اضافه بار به صورت پیش‌رونده بین ۲۵-۵۴ دقیقه، با سرعت بین ۱۵-۲۰ متر در دقیقه و ۵ جلسه در هفته اجرا شد [۱۶]. برای گرم کردن نیز آزمودنی‌ها در ابتدای هر جلسه تمرینی به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۷ متر در دقیقه دویده و سپس برای رسیدن به

سرعت مورد نظر به ازای هر دقیقه ۲ متر بر دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده شد. برای سرد کردن بدن در انتهای هر جلسه تمرینی نیز سرعت نوارگردان به‌طور معکوس کاهش یافت تا این‌که به سرعت اولیه برسد.

در تحقیق حاضر در ۱۵ روز انتهایی برنامه تمرین، از تزریق روزانه دوز تجمع ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۱۵ میلی گرم/کیلوگرم) دوکسوروبیسین (Pfizer، استرالیا) به صورت زیر صفافی به گروه‌های دوکسوروبیسین انجام شد. همچنین با توجه به آثار احتمالی تزریق زیر صفافی دوکسوروبیسین بر شاخص‌های اکسایشی و در نتیجه تأثیر احتمالی بر نتایج پژوهش، به گروه‌های دیگر نیز ۱ واحد انسولینی سالین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدنشان به صورت زیر صفافی تزریق شد. همزمان با تزریق دوکسوروبیسین به گروه‌های نانوکورکومین، مکمل خوراکی نانوکورکومین (نانو اکسیر سینا، ایران) به وسیله روش گاواژ به میزان ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به موش‌ها خورانده شد. در انتها تمام گروه‌ها در شرایط استراحتی [۲ روز پس از آخرین جلسه تمرینی، تزریق یا گاواژ (Gavage)] و ناشتایی [۱۷]، با کتامین (Ketamine) (۳۰-۵۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (Xylazine) (۳-۵ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) بیهوش و پس از تست بیهوشی از طریق پانچ کف دست و کف پا، محفظه سینه شکافته شد و پس از جداکردن بافت کبد وزن‌کشی شد (جدول ۱) و بلافاصله پس از شستشو توسط آب دیونیزه در مایع نیتروژن قرار داده شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسایشی MDA و گلووتاتیون پراکسیداز، ابتدا بافت کبد با استفاده از مایع نیتروژن پودر شد و سپس ۱۰۰ میلی گرم از پودر ساخته شده با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین حاوی ۸ گرم NaCl، ۲۰ میلی‌مول Tris-HCL ($\text{pH}=7.4$)، ۱ درصد NP40، ۱۰

اثر تمرین ورزشی و نانوکورکومین بر سمیت کبدی

با سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و مایع به دست آمده برای سنجش شاخص‌های مورد نظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. برای تعیین مقادیر MDA و گلوتاتیون پراکسیداز از روش الایزا (Enzyme-linked Immunosorbent Assay: ELISA) استفاده شد [۱۸].

درصد گلیسرول، ۱ میلی‌مول PMSF (Phenylmethane sulfonyl fluoride)، ۱ میکروگرم لپتین (Leptin)، ۰/۵ میلی‌مول سدیم وانادایت (Sodium vanadate) و ۱۰۰ میلی‌گرم AEBSF (4-(2-aminoethyl)benzenesulfonyl fluoride hydrochloride) همگن شد و به مدت ۱۵ دقیقه

جدول ۱ میانگین وزن رت‌ها در ابتدا و انتهای پژوهش، میانگین وزن کبد و نسبت وزن کبد به وزن بدن در گروه‌ها

گروه	میانگین وزن ابتدا $\pm$ انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن انتها $\pm$ انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن کبد $\pm$ انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن کبد/وزن بدن $\pm$ انحراف معیار
S (N=۶)	۲۵۸/۸۳ $\pm$ ۴۹/۳۵	۳۸۶/۱۶ $\pm$ ۴۲/۴۵	۱۵/۵۳ $\pm$ ۱/۷۴	۲۴/۸۷
D (N=۶)	۲۷۵ $\pm$ ۳۹/۴۹	۳۲۹ $\pm$ ۴۵/۷۲	۱۱/۹۸ $\pm$ ۳/۰۶	۲۷/۴۶
CTD (N=۶)	۲۷۷/۵۰ $\pm$ ۱۹/۴۲	۳۳۷ $\pm$ ۲۷/۰۳	۱۱/۲۹ $\pm$ ۲/۵۵	۲۹/۸۵
CTS (N=۶)	۲۷۹/۱۶ $\pm$ ۳۱/۰۵	۳۴۰/۶۶ $\pm$ ۳۹/۲۵	۱۰/۷۸ $\pm$ ۰/۹۶	۳۱/۶۰
CTNaCD (N=۶)	۲۷۷/۸۳ $\pm$ ۳۱/۸۱	۳۴۴/۶۶ $\pm$ ۲۳/۲۹	۱۲/۸۰ $\pm$ ۲/۷۳	۲۶/۹۳
NaCD (N=۶)	۲۷۲ $\pm$ ۵۳/۱۱	۳۳۴/۶۶ $\pm$ ۶۹/۸۸	۱۰/۸۹ $\pm$ ۲/۰۶	۳۱/۶۵
NaCS (N=۶)	۲۷۳/۳۳ $\pm$ ۴۷/۱۸	۳۷۳/۱۶ $\pm$ ۷۷/۹۸	۱۴/۸۸ $\pm$ ۳/۲۳	۲۵/۰۸

S= کنترل سالین، D= کنترل دوکسوروبیسین، CTD= تمرین تداومی + دوکسوروبیسین، CTS= تمرین تداومی + سالین، CTNaCD= تمرین تداومی + نانوکورکومین + دوکسوروبیسین، NaCD= نانوکورکومین + دوکسوروبیسین، NaCS= نانوکورکومین + سالین

پژوهش، وزن کبد و نسبت وزن کبد به وزن بدن در جدول یک نشان داده شده است. در شروع، تفاوت قابل توجهی در میانگین وزن بدن میان گروه‌ها وجود نداشت. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که سطوح گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبد گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین کاهش معنی‌دار ($P=0/048$) دارد (شکل ۱). از طرفی ۶ هفته تمرین تداومی به همراه درمان دوکسوروبیسین، منجر به افزایش سطوح گلوتاتیون پراکسیداز در مقایسه با گروه کنترل دوکسوروبیسین (بدون تمرین) و گروه نانوکورکومین + دوکسوروبیسین شد؛ اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$). همچنین خوراندن مکمل نانوکورکومین به همراه درمان دوکسوروبیسین، موجب افزایش سطوح گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبد در مقایسه با

برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov smimov test) برای تعیین وضعیت توزیع هریک از شاخص‌ها استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده‌ها، از روش تحلیل واریانس یک طرفه (one-way Analysis of Variance: ANOVA) و آزمون تعقیبی LSD (Least significant difference) به منظور بررسی تفاوت هر یک از شاخص‌های مورد نظر بین گروه‌های مختلف پژوهش استفاده شد و مقدار $P\leq 0/05$ به عنوان مقدار معنی‌داری منظور شد.

نتایج

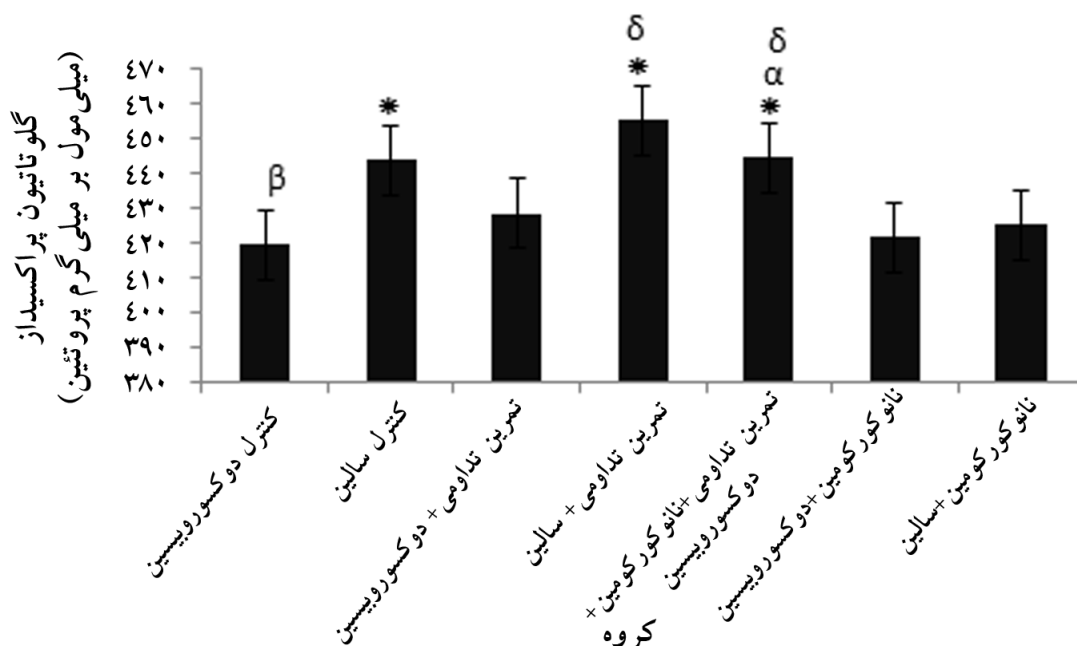
ویژگی‌های حیوانات شامل وزن بدن در ابتدا و انتهای

گروه دوکسوروبیسین شد، هر چند به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$). از طرف دیگر؛ ۶ هفته تمرین تداومی به همراه مکمل خوراکی نانوکورکومین در موش‌های درمان شده با دوکسوروبیسین موجب افزایش معنی‌دار سطوح گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبدی در مقایسه با گروه کنترل دوکسوروبیسین ($P=0/042$) و گروه نانوکورکومین + دوکسوروبیسین ($P=0/015$) شد (شکل ۱).

همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، القای دوز تجمعی (۱۵ میلی گرم/کیلوگرم) دوکسوروبیسین در بافت کبد منجر به افزایش میانگین MDA در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین شد؛ هر چند به لحاظ آماری معنی‌دار نبود

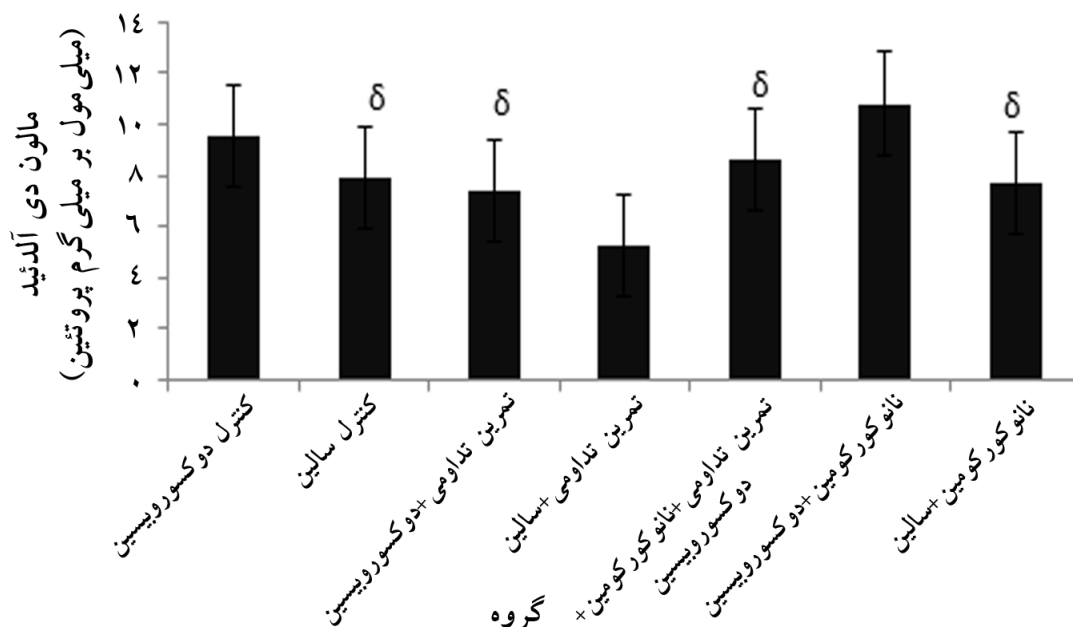
($P>0/05$). با توجه به نتایج به دست آمده اجرای ۶ هفته تمرین تداومی به همراه درمان دوکسوروبیسین، موجب کاهش معنی‌دار میانگین MDA نسبت به گروه نانوکورکومین + دوکسوروبیسین ($P=0/017$) شد و همچنین کاهش نسبت به گروه کنترل دوکسوروبیسین شد که البته معنی‌دار نبود ($P>0/05$). همچنین مصرف مکمل نانوکورکومین به همراه درمان دوکسوروبیسین، تأثیر معنی‌داری در میانگین MDA نسبت به گروه کنترل دوکسوروبیسین نداشت ($P>0/05$). از طرفی؛ ترکیب تمرین تداومی و نانوکورکومین منجر به کاهش میانگین MDA در مقایسه با گروه کنترل دوکسوروبیسین شد؛ هر چند معنی‌دار نبود.

گلوتاتیون پراکسیداز



شکل ۱ میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبد گروه‌های مختلف مورد آزمون؛ * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دوکسوروبیسین، α اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین تداومی + دوکسوروبیسین، β اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین تداومی + نانوکورکومین + دوکسوروبیسین، δ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوکورکومین + دوکسوروبیسین ($P<0/05$)

مالون دی آلدئید



شکل ۲ میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) MDA یافت کبد گروه‌های مختلف مورد آزمون؛ *اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دوکسوروبیسین، α اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین تداومی + دوکسوروبیسین، β اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین تداومی + نانوکورکومین + دوکسوروبیسین و δ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوکورکومین + دوکسوروبیسین ($P < 0.05$)

بحث

هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی اثر شش هفته تمرین تداومی با و بدون مکمل نانوکورکومین بر سمیت کبدی متعاقب القای دوکسوروبیسین در موش‌های آزمایشگاهی بزرگ مدل سالمندی بود. مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد تمرین تداومی به همراه مکمل خوراکی نانوکورکومین در موش‌های مدل سالمندی درمان شده با دوکسوروبیسین موجب بهبود تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی/اکسیدانی به نفع کاهش استرس اکسایشی ناشی از دوکسوروبیسین نسبت به تمرین تداومی یا مکمل خوراکی نانوکورکومین به تنهایی شد. همچنین نتایج این مطالعه برای اولین بار نشان داد تمرین تداومی به همراه درمان دوکسوروبیسین، نسبت به مکمل نانوکورکومین به همراه

درمان دوکسوروبیسین احتمالاً در کاهش سمیت ناشی از داروی دوکسوروبیسین در موش‌های مدل سالمندی نقش مفیدتری دارد. از طرفی؛ یافته دیگر این پژوهش در تأیید مطالعات پیشین [۲، ۳، ۱۶]، سمیت کبدی ناشی از داروی دوکسوروبیسین با به هم خوردن تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی/اکسیدانی به نفع استرس اکسایشی را در موش‌های مدل سالمندی نشان داد.

در طول زمان درمان با دوکسوروبیسین، غلظت بالای از دارو در کبد تجمع یافته و متابولیزه می‌شود، از این رو کبد به عنوان یکی از اندام‌های آسیب‌پذیر در معرض درمان با دوکسوروبیسین است. تقریباً ۴۰ درصد از بیماران از آسیب کبدی پس از درمان با دوکسوروبیسین رنج می‌برند [۱]. براساس نتایج تحقیق حاضر القای دوکسوروبیسین موجب

افزایش MDA و کاهش معنی دار گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به حیوانات دریافت کننده سالین شد که تأیید کننده اثر سمیت ناشی از مصرف این دارو است. این یافته همسو با نتایج اشرفی و همکاران [۱۶]؛ ذوالفقارزاده و دبیدی روشن [۲]، ژاگر (Jäger) و همکاران [۱۹] و سن (Sen) و همکاران [۲۰] است که نشان دادند القا داروی دوکسوروبیسین موجب سمیت کبدی می شود. اطلاعات موجود نشان می دهد که دوکسوروبیسین از طریق اختلال کارکردهای مهم میتوکندری و کاهش فعالیت آنزیم های حیاتی میتوکندری با آن برهم کنش نشان می دهد [۲۱].

یافته دیگر این پژوهش نشان داد تمرین تداومی حین درمان دوکسوروبیسین، تا حدودی موجب کاهش استرس اکسایشی ناشی از القا دوکسوروبیسین در موش های مدل سالمندی شد که همسو با نتایج مطالعه ذوالفقارزاده و دبیدی روشن، [۲] و اشرفی و همکاران [۱۶] بود. نتایج این محققان نشان داد، اجرای تمرینات منظم هوازی قبل از تزریق دوکسوروبیسین، عدم تعادل آنتی اکسیدانی/اکسیدانی ناشی سمیت دارو را در بافت کبد معکوس می نماید و پیشنهاد کردند که تمرینات منظم هوازی می تواند به عنوان رویکرد درمانی برای کاهش سمیت کبدی ناشی از دوکسوروبیسین استفاده شود [۲، ۱۶]. همچنین آسنسائو (Ascensão) و همکارانش (۲۰۰۵)، در مطالعه ای عنوان کردند که چهارده هفته تمرین استقامتی موجب مهار افزایش MDA ناشی از القای دوکسوروبیسین شد [۲۲].

از طرفی؛ تمرین تداومی با توجه به کاهش معنی دار MDA و افزایش گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به مکمل نانوکورکومین در کاهش استرس اکسایشی ناشی از القای دوکسوروبیسین مفیدتر است. محققان نشان دادند عصاره کورکومین آثار درمانی و حفاظتی متعددی در برابر سمیت کبدی، قلبی و کلیوی ناشی از داروی DOX دارد [۲۳-۲۵]. کورکومین اثر حفاظتی خود را توسط تعدیل آنزیم های

بیوشیمیایی و حفظ تعادل آنتی اکسیدانی-اکسیدانی به اجرا می گذارد. احتمالاً کورکومین از طریق افزایش دفع متابولیت های سمی و قابلیت سریع و مؤثر در پاک کنندگی رادیکال های لیپید پراکسیل (Lipid Peroxyl) قبل از این که این رادیکال ها به غشای لیپیدی حمله کند، صدمات اکسایشی را کاهش می دهد [۲۶]. بر اساس مطالعات انجام شده مقدار خوراکی کورکومین می تواند تا ۸۰۰ میلی گرم روزانه افزایش داده شود بدون آن که اثر توکسیسیته بر بدن داشته باشد [۲۷]. کورکومین در غلظت های پایین دارای اثر ضد فیبرینوژن (Fibrinogenes) و در غلظت های بالا باعث ایجاد مرگ سلولی برنامه ریزی شده (Apoptosis) در سلول های ماهواره ای یا اقماری (Satellite) کبد موش می شود [۲۸]. با این حال در تحقیق حاضر استفاده از مکمل نانوکورکومین به تنهایی تغییر معنی داری در سمیت ناشی از داروی دوکسوروبیسین نداشت که نتیجه ای دور از انتظار بود. اگرچه انجام پژوهش های بیشتر برای تأیید احتمالی این دیدگاه ضروری به نظر می رسد.

یافته دیگر مطالعه حاضر نشان داد که تمرین تداومی به همراه مکمل خوراکی نانوکورکومین در موش های مدل سالمندی درمان شده با دوکسوروبیسین موجب کاهش MDA و افزایش معنی دار گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه دوکسوروبیسین به تنهایی شد که نشان دهنده فواید توأم تمرین تداومی و مصرف مکمل نانوکورکومین نسبت به فواید هر کدام به تنهایی در بهبود تعادل سیستم آنتی اکسیدانی/اکسیدانی به نفع کاهش استرس اکسایشی است. سمیت کبدی یا قلبی ناشی از داروی دوکسوروبیسین نیز اغلب با تولید رادیکال های آزاد رخ می دهد و استرس اکسایشی نقش مهمی در کاردیومیوپاتی (Cardiomyopathy) و آسیب کبدی ناشی از داروی دوکسوروبیسین دارد [۲۹]. احتمالاً تمرین تداومی منظم که با شدت و مدت مشخص برنامه ریزی شده انجام شود همراه با مصرف مکمل نانوکورکومین می تواند شدت و

اثر تمرین ورزشی و نانوکورکومین بر سمیت کبدی

حلال و نوع مدل حیوانی است؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود مطالعات تکمیلی دیگر برای دستیابی به شناخت هر چه بهتر این موارد صورت پذیرد [۲۵]. اگرچه انجام پژوهش‌های بیشتر برای تأیید احتمالی این دیدگاه ضروری به نظر می‌رسد، اما باید اعتراف نمود یکی از محدودیت‌های پژوهش کنونی عدم وجود بررسی‌های مرتبط با پژوهش حاضر برای مقایسه دقیق یافته‌های پژوهشی است.

به طور خلاصه، پژوهش حاضر نشان داد که انجام تمرینات منظم تداومی به مدت شش هفته احتمالاً می‌تواند با افزایش سطوح گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش شاخص اکسایشی MDA منجر به بهبود تعادل آنتی‌اکسیدانی/اکسیدانی شود و سمیت ناشی از القای داروی دوکسوروبیسین را کاهش دهد. به علاوه؛ مصرف مکمل نانوکورکومین به عنوان ماده آنتی‌اکسیدان به همراه تمرین تداومی موجب اثربخشی بیشتر نسبت به تمرین تداومی یا مکمل خوراکی نانوکورکومین به تنهایی در بهبود تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی/اکسیدانی به نفع کاهش استرس اکسایشی ناشی از دوکسوروبیسین شد. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که انجام تمرینات تداومی منظم و مصرف همزمان مکمل نانوکورکومین می‌تواند به عنوان یک راه‌کار پیشگیرانه طی درمان با دوکسوروبیسین برای کاهش سمیت کبدی ناشی از دوکسوروبیسین استفاده شود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده آثار مفیدتر تمرین تداومی نسبت به مصرف مکمل نانوکورکومین در کاهش سمیت کبدی ناشی از القا داروی دوکسوروبیسین است.

تشکر و قدردانی

از جامعه علمی دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران که محققان حاضر را در انجام این پژوهش یاری نمودند صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

آستانه لازم را برای فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن تأمین کند. کورکومین با جمع‌آوری و خشی‌سازی رادیکال‌های آزاد، مهار آنزیم‌های اکسیداتیو مانند سیتوکروم P-450، تعامل با آبشارهای اکسیداتیو از بروز خواص اکسیداتیو آن‌ها ممانعت می‌کند [۲۵]. در این مطالعه سعی شده است که برای بهبود دسترسی زیست‌بافتی محلول کورکومین، به عنوان اولین بار از مکمل نانوکورکومین به همراه تمرینات منظم ورزشی استفاده شود.

از طرفی؛ کاهش MDA و افزایش معنی‌دار گلوتاتیون پراکسیداز در گروه تمرین تداومی همراه با مصرف مکمل نانوکورکومین نسبت به گروه تمرین تداومی + دوکسوروبیسین می‌تواند احتمالاً نشان‌دهنده این نکته باشد که اضافه شدن مکمل نانوکورکومین به تمرین تداومی می‌تواند اثربخشی بیشتری در افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی نسبت به کاهش شاخص اکسایشی داشته باشد که البته در نهایت بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش فشار اکسایشی و کاهش سمیت ناشی از القا داروی دوکسوروبیسین می‌شود. با توجه به شواهد گوناگون در راستای مزایای تمرینات منظم [۲، ۱۵، ۳۰] و همچنین مکمل کورکومین [۲۳، ۳۱] در مقابله با استرس اکسایشی ناشی از القای دوکسوروبیسین احتمالاً انجام تمرینات منظم روی نوارگردان به همراه مکمل نانوکورکومین که محدودیت‌های دسترسی بافتی کورکومین را برطرف می‌کند، منجر به افزایش بیشتر سطوح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود و می‌تواند تعادل اکسیدانی/آنتی‌اکسیدانی را به نفع سطوح آنتی‌اکسیدان و مهار اکسایش تغییر دهد و می‌توان به عنوان راه‌کار مناسبی برای پیشبرد اهداف پیشگیرانه و حفاظتی در مقابل استرس اکسایشی و سمیت کبدی ناشی از القای دوکسوروبیسین پیشنهاد شود. نتایج متناقض در بررسی‌های انجام یافته، نشان‌دهنده پیچیدگی مسیرهای متابولیسمی ایجاد سمیت از نظر نحوه، زمان و دوز تجویز دارو و آنتی‌اکسیدان به کار گرفته از نظر درصد خلوص، نوع

منابع

- [1] Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, Correia S, Oliveira PJ, Santos MS, Moreira PI. Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Curr Med Chem* 2009; 16(25): 3267-85.
- [2] Zolfagharzadeh F, Roshan VD. Pretreatment hepatoprotective effect of regular aerobic training against hepatic toxicity induced by Doxorubicin in rats. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(5): 2931-6.
- [3] Alishahi A, Roshan VD, Hedayati M. Pretreatment effects of regular aerobic training on the IGF system and hepatotoxicity induced by doxorubicin in rats. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(12): 7427-31.
- [4] Zhang X, Zhao Q, Qiu L. Reduction-Responsive Curcumin-Conjugated Micelles for Triggered Intracellular Drug Delivery. *Nanomedicine and Nanobiology* 2014; 1(1):70-7.
- [5] Sreejayan, Rao MN. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J Pharm Pharmacol* 1997; 49(1): 105-7.
- [6] Wang Y, Yu C, Pan Y, Yang X, Huang Y, Feng Z, Li X, Yang S, Liang G. A novel synthetic mono-carbonyl analogue of curcumin, A13, exhibits anti-inflammatory effects in vivo by inhibition of inflammatory mediators. *Inflammation* 2012; 35(2): 594-604.
- [7] Rao CV, Rivenson A, Simi B, Reddy BS. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary curcumin, a naturally occurring plant phenolic compound. *Cancer Res* 1995; 55(2): 259-66.
- [8] Flora G, Gupta D, Tiwari A. Preventive efficacy of bulk and nanocurcumin against lead-induced oxidative stress in mice. *Biol Trace Elem Res* 2013; 152(1): 31-40.
- [9] Nehra S, Bhardwaj V, Kalra N, Ganju L, Bansal A, Saxena S, Saraswat D. Nanocurcumin protects cardiomyoblasts H9c2 from hypoxia-induced hypertrophy and apoptosis by improving oxidative balance. *J Physiol Biochem* 2015; 71(2): 239-51.
- [10] Lima FD, Stamm DN, Della-Pace ID, Dobrachinski F, de Carvalho NR, Royes LF, Soares FA, Rocha JB, González-Gallego J, Bresciani G. Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. *PLoS One* 2013; 8(2): e55668.
- [11] Singh Z, Karthigesu IP, Singh P, Kaur R. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: a Review. *Iranian Journal of Public Health* 2014; 43(3): 7-16.
- [12] de Souza Jr. TP, de Oliveira PR, Pereira B. Physical exercise and oxidative stress. Effect of intense physical exercise on the urinary chemiluminescence and plasmatic malondialdehyde. *Rev Bras Med Esporte* 2005; 11(1): 97-101.
- [13] Shadab M, Islam N, Khan Z, Khan F, Mobarak Hossain M. Oxidative Stress in Sports Persons after a bout of Intense Exercise: A Cross Sectional Study. *Biomed Res- India* 2014; 25(3): 387-90.
- [14] Li XD, Sun GF, Zhu WB, Wang YH.

- Effects of high intensity exhaustive exercise on SOD, MDA, and NO levels in rats with knee osteoarthritis. *Genet Mol Res* 2015; 14(4): 12367-76.
- [15] Song X, Bao M, Li D, Li YM. Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model. *Mech Ageing Dev* 1999; 108(3): 239-51.
- [16] Ashrafi J, Dabidi Roshan V, Mahjoub S. Cardioprotective effects of aerobic regular exercise against doxorubicin-induced oxidative stress in rat. *Afr J Pharm Pharmacol* 2012; 22; 6(31):2380-8.
- [17] Farzanegi P, Saberi S, Fakharian A, Rasaii M, Dabidi Roshan V. Combined Effects of Curcuma longa and Exercise Training on Kidney and Spleen Tissue Levels of Glutathione Peroxidase and Protein Carbonyl in Rats Exposed to Lead. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology* 2011; 15(3): 49-62. (Persian)
- [18] Mohamad RH, El-Bastawesy AM, Zekry ZK, Al-Mehdar HA, Al-Said MG, Aly SS, Sharawy SM, El-Merzabani MM. The role of Curcuma longa against doxorubicin (adriamycin)-induced toxicity in rats. *J Med Food* 2009; 12(2): 394-402.
- [19] Jäger R, Lowery RP, Calvanese AV, Joy JM, Purpura M, Wilson JM. Comparative absorption of curcumin formulations. *Nutr J* 2014; 13: 11.
- [20] Sen C, Packer L, Hänninen O. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. 1st Edition, Netherlands: Elsevier Science 2000.
- [21] Cecen E, Dost T, Culhaci N, Karul A, Ergur B, Birincioglu M. Protective effects of silymarin against doxorubicin-induced toxicity. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12(10): 2697-704.
- [22] Ascensão A, Magalhães J, Soares JM, Ferreira R, Neuparth MJ, Marques F, Oliveira PJ, Duarte JA. Moderate endurance training prevents doxorubicin-induced in vivo mitochondriopathy and reduces the development of cardiac apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289(2): H722-31.
- [23] Swamy AV, Gulliaya S, Thippeswamy A, Koti BC, Manjula DV. Cardioprotective effect of curcumin against doxorubicin-induced myocardial toxicity in albino rats. *Indian J Pharmacol* 2012; 44(1): 73-7.
- [24] Prasad S, Tyagi AK, Aggarwal BB. Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: the golden pigment from golden spice. *Cancer Res Treat* 2014; 46(1): 2-18.
- [25] Zargari M, Ahmadi S, Shabani S, Mehrouz A. Protective effect Superoxide dismutase and catalase activity of curcumin on rat kidney exposed to acetaminophen. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 22(97): 74-83. (Persian)
- [26] El-Demerdash FM, Yousef MI, Radwan FM. Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(1): 249-54.
- [27] Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 1-75.
- [28] Deilami E, Tajbakha S, Zandi K. Anti-bacterial effect of curcumin (curcumin) and its components. Medical professional thesis Ph.D., 2009. (Persian)
- [29] Clemmons DR. Modifying IGF1 activity: an

- approach to treat endocrine disorders, atherosclerosis and cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6(10): 821-33.
- [30] Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Mariani D, Rizo-Roca D, Padrão AI, Rocha-Rodrigues S, Viscor G, Torrella JR, Ferreira R, Oliveira PJ, Magalhães J, Ascensão A. Physical exercise prior and during treatment reduces sub-chronic doxorubicin-induced mitochondrial toxicity and oxidative stress. *Mitochondrion* 2015; 20: 22-33.
- [31] Nehra S, Bhardwaj V, Kalra N, Ganju L, Bansal A, Saxena S, Saraswat D. Nanocurcumin protects cardiomyoblasts H9c2 from hypoxia-induced hypertrophy and apoptosis by improving oxidative balance. *J Physiol Biochem* 2015; 71(2): 239-51.