

Effect of Pretreatment of Aerobic Training on Doxorubicin-induced Left Ventricular Apoptosis Gene Expression in Aging Rat Model

Fateme Sharifi¹, Valiollah Dabidi Roshan^{2*}, Zohreh Mazaheri³

- 1- Ph.D. Candidate, Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
2- Professor, Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
3- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Corresponding Address: Postal Code: 4741613534, Department of Sport Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
Email: v.dabidi@umz.ac.ir, vdabidiroshan@yahoo.com

Received: 16/May/2016, Accepted: 12/Dec/2016

Abstract

Objective: Aging can affect adaption of the heart tissue's apoptotic system to aerobic exercise and induction of doxorubicin. Therefore, this study aims to evaluate the effect of pretreatment of aerobic training on doxorubicin-induced left ventricular apoptosis gene expression in a model of aging rats.

Methods: We randomly assigned 42 adult Wistar male rats to 6 groups (n=7 per group): control of young, control of aging, aging + saline, aging + doxorubicin, aging + aerobic exercise + saline, and aging + aerobic exercise + doxorubicin. Aging was induced by an intraperitoneal (i.p.) injection of D- galactose (100 mg/kg). The training protocol included treadmill running with a gradual increase from 25 min/day to 54 min/day at a velocity of 15 m/min to 20 m/min, 5 days/week for 6 weeks. During the two ultimate training weeks, the animals underwent a 15-day i.p. doxorubicin regimen that consisted of 1 mg/kg of doxorubicin per day. The rats were sacrificed 48 hours after the last training and injection session. A portion of the left ventricle was analyzed by real-time PCR for *Bax* and *Bcl-2* gene expressions.

Results: ANOVA indicated that doxorubicin injection induced a significant increase in expression of *Bax* and *Bax/Bcl-2* ratio and an insignificant decrease in *Bcl-2* gene expression. On the other hand, aerobic training before and during the induction of doxorubicin prevented an increase in the *Bax/Bcl-2* ratio and the doxorubicin-induced decrease in *Bcl-2* gene expression.

Conclusion: Due to the significant decrease in *Bax/Bcl-2* ratio in the hearts of the trained rats that underwent doxorubicin treatment, we conclude that aerobic exercise training prior to and during treatment with doxorubicin as a non-pharmacological strategy, probably protects cardiomyocytes from doxorubicin-induced apoptosis.

Keywords: Doxorubicin, Cardiotoxicity, Pre-treatment, Aerobic exercise, Heart apoptosis

Pathobiology Research, Vol. 19 (2016-2017), No.2, Pages: 29-43

اثر پیش درمان تمرين هوازی بر بیان ژن مرگ سلولی برنامه ریزی شده بطن چپ متعاقب القای دوکسورو بیسین در موش های صحرایی مدل سالمندی

فاطمه شریفی^۱، ولی ام... دبیدی روشن^{۲*}، زهره مظاہری^۳

۱-دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

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

۳-استادیار، گروه علوم تشريح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، بابلسر، کد پستی: ۴۷۴۱۶۱۳۵۳۴، دانشگاه مازندران، دانشکده تربیت بدنی، گروه فیزیولوژی ورزشی
Email: v.dabidi@umz.ac.ir, vdabidiroshan@yahoo.com

پذیرش مقاله: ۹۵/۰۹/۲۲

دریافت مقاله: ۹۵/۰۲/۲۷

چکیده

هدف: سالمندی می تواند سازگاری سیستم مرگ سلولی برنامه ریزی شده بافت قلب به تمرين هوازی و القای دوکسورو بیسین را تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر پیش درمان تمرين هوازی بر بیان ژن مرگ سلولی برنامه ریزی شده بطن چپ متعاقب القای دوکسورو بیسین در موش های صحرایی مدل سالمندی بود.

مواد و روش ها: ۴ سر موش صحرایی بالغ نر نژاد ویستار، به طور تصادفی در ۶ گروه ۷ تایی: کنترل جوان، کنترل سالمند، سالمند + دوکسورو بیسین، سالمند + سالین، سالمند تمرين هوازی + سالین و سالمند تمرين هوازی + دوکسورو بیسین قرار گرفتند. سالمندسازی به وسیله تزریق درون صفاقی محلول دی گالاكتوز (۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) ایجاد شد. دستور العمل تمرين استقاماتی شامل شش هفته دویden روی نوار گردان به صورت پیشرونده به مدت ۵۴-۲۵ دقیقه در روز با سرعت ۱۵-۲۰ متر در دقیقه، پنج جلسه در هفته بود. ۲ هفته آخر تمرين، هر روز تزریق درون صفاقی دوکسورو بیسین با محلول سالین ۰/۹ درصد، با یک دوز تجمعی (۱میلی گرم/کیلوگرم) اجرا شد. ۴ ساعت پس از آخرين جلسه تمرينی و تزریق، رتها قربانی و قسمتی از بطن چپ قلب، برای ارزیابی بیان ژن های *Bax* و *Bcl-2* به روش Real time-PCR جدا شد.

نتایج: آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد تزریق دوکسورو بیسین موجب افزایش معنی دار بیان ژن *Bax* و نسبت *Bax/Bcl-2* و کاهش جزئی بیان ژن *Bcl-2* می شود. از طرفی انجام تمرين هوازی قبل و طی القای دوکسورو بیسین از افزایش نسبت *Bax/Bcl-2* و کاهش بیان ژن *Bcl-2* ناشی از تزریق دوکسورو بیسین پیشگیری کرد.

نتیجه گیری: با توجه به کاهش معنی دار در نسبت *Bax/Bcl-2* در قلب موش های گروه تمرين کرده درمان شده با دوکسورو بیسین می توان نتیجه گرفت که تمرين ورزشی هوازی قبل و طی درمان دوکسورو بیسین احتمالاً می تواند به عنوان راهبرد غیر دارویی، موجب محافظت سلول های قلب از مرگ سلولی برنامه ریزی شده ناشی از القای دوکسورو بیسین شود.

کلیدواژگان: دوکسورو بیسین، سمیت قلبی، پیش درمان، تمرين هوازی، مرگ سلولی برنامه ریزی شده قلب

پژوهش های آسیب شناسی زیستی، دوره ۱۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵، صفحات: ۴۳-۲۹

مقدمه

سمیت قلبی آن دلیل اصلی برای محدود کردن است از آن عامل ضد سرطان قوی به رسمیت شناخته شده است، اما اثر محسوب می شود [۱-۵]. مرگ سلولی برنامه ریزی شده

دوکسورو بیسین (Doxorubicin: Dox) به عنوان یک عامل ضد سرطان قوی به رسمیت شناخته شده است، اما اثر پژوهش های آسیب شناسی زیستی، دوره ۱۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵

اثر تمرین هوازی بر مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده بطن چپ متعاقب القای دوکسوروبیسین

عملکرد ناشی از Dox به وسیله افزایش فعالیت و بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو [۳، ۱۸، ۲۳، ۲۴]، کاهش پروکسیداسیون لپیدی [۳، ۲۵]، تنظیم مثبت پروتئین شوک گرمایی ۷۲ (Heat shock protein 72: HSP72) [۲۶]، حفظ توزیع ایزوفرم زنجیره سنگین میوزین (Myosin Heavy Chain: MHC) [۲۷، ۲۸] یا تنظیم منفی آنزیم‌های مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده شود [۲۹، ۲۲، ۲۵]. آسانسائو (Ascensão) و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه‌ای نشان دادند که Dox باعث اختلال عملکرد تنفس میتوکندریایی، آسیب اکسیداتیو و ضایعات هیستوپاتولوژیک و راه انداختن مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده می‌شود. با این وجود تمرین استقامتی افزایش ناشی از Dox را در پروتئین کربوئیل، مالون دی‌آلدئید، Bax، نسبت-2 Bax/Bcl و فعالیت کاسپاز ۳ (Caspase ۳) را مهار می‌کند [۳]. با این حال، اکثر مطالعات آثار حفاظتی برنامه‌های تمرین‌های بلند مدت [۱۷، ۳] یا تمرین‌های حد [۱۶، ۳۰] را در درمان سمیت قلبی ناشی از Dox گزارش داده‌اند؛ اما اثر پیش درمان تمرین هوازی میان مدت قبل از القای Dox کمتر مورد توجه محققان قرار گرفته است. همچنین اکثر مطالعاتی که تاکنون به مطالعه اثر القای Dox پرداخته‌اند، از موش‌های جوان به عنوان آزمودنی استفاده کرده‌اند [۳۱، ۱۹، ۲۹]. در تحقیقات گذشته، این حقیقت که سازگاری سیستم مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده بافت قلب به ورزش و القای Dox می‌تواند تحت تأثیر روند سالم‌نده قرار گیرد، مورد توجه قرار نگرفته است و این موضوع، دیدگاه تازه‌ای است که در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی اثر پیش درمان تمرین هوازی بر بیان ژن‌های مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده بطن چپ قلب متعاقب القای مزمن Dox در موش‌های صحرایی مدل سالم‌نده بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی

در پژوهش حاضر ۴۲ سر موش صحرایی بالغ نر ۱۲

(Apoptosis) ناشی از القای Dox مکانیسم رایج در سلول‌های سلطانی است و تصور بر این است که مسمومیت در سلول‌های سالم ممکن است از طریق این اثر رخ دهد، اگرچه ممکن است از طریق مسیرهای دیگر نیز به وجود بیاید [۶]. نشان داده شده است که Dox با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب آسیب به غشای میتوکندری، آزاد شدن سیتوکروم C و در نتیجه القای مرگ سلولی (Cardiomyocytes) بر نامه‌ریزی شده در کاردیومایوسیت‌ها (Cardiomyocytes) می‌شود [۷-۹]. اخیراً مطالعه‌ای نشان داد که Dox موجب انهدام تقریباً کامل سلول‌های پیش‌ساز قلب شد در حالی که تزریق داخل میوکاردی پیش‌سازهای قلبی یکسان از لحظه ژنتیکی، قلب را از مسمومیت ناشی از Dox نجات داد [۱۰]. از طرفی؛ قلب سالم‌نده نسبت به قلب جوان، به مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده حساس‌تر است همچنین تمرین ورزشی تکراری عملکرد ضد مرگ سلولی بر نامه‌ریزی شده در قلب سالم‌نده اعمال می‌کند [۱۱]. برخی از مطالعات نشان داده است که Dox می‌تواند موجب سالخوردگی نا به‌هنگام در کاردیومایوسیت‌ها [۱۲] و سلول‌های پیش‌ساز قلبی شود [۱۳]. بنابراین کاهش تعداد سلول کاردیومایوسیت، انحطاط میوفیبریلی و جلوگیری از رشد کاردیومایوسیت در ترکیب با هم در ایجاد مسمومیت قلبی ناشی از Dox نقش دارند. پس با توجه به این مطالب، مداخلات موفق باید چند عاملی با هدف حفظ هر دو تعداد و رشد سلول کاردیومایوسیت در مقابل از بین رفتن ناشی از Dox باشند [۱۴].

در میان استراتژی‌های پیشنهادی در مقابله مؤثر با عوارض جانبی مرتبط با درمان Dox، ورزش به عنوان یک ابزار غیر دارویی چند عاملی در برابر صدمه قلبی توصیه شده است که در برخی از مطالعات به کار رفته است [۱، ۳، ۲۰-۲۱]. پیش درمان ورزشی اجرا شده قبل از شروع درمان Dox، عملکرد قلب را حفظ می‌کند و نشانه‌های ظاهری آسیب عضله قلب را کاهش می‌دهد [۲۱]. علاوه بر این؛ نشان داده شده است که تمرین ورزشی پیشین، تعداد و اندازه کاردیومایوسیت را افزایش می‌دهد [یعنی هایپرتروفی فیزیولوژیک (Physiologic hypertrophy)] [۲۲]. همچنین ورزش ممکن است موجب محافظت بافت قلبی از اختلال

در دقیقه در شب صفر درصد و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد (هفته چهارم). سپس از هفته پنجم، برنامه تمرینی اصلی تحقیق شامل دویلن روی نوارگردان بدون شب ویژه جوندگان با مدت فزاینده و با رعایت اصل اضافه بار از ۲۵ دقیقه به ۵۴ دقیقه و تغییر سرعت تمرین از ۱۵ به ۲۰ متر در دقیقه انجام شد. این برنامه به مدت ۶ هفته، ۵ جلسه در هفته اجرا شد. برای گرم کردن نیز آزمودنی‌ها در ابتدای هر جلسه تمرینی به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۷ متر در دقیقه دویله و سپس برای رسیدن به سرعت مورد نظر در هر دقیقه، ۲ متر در دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده شد. برای سرد کردن بدن در انتهای هر جلسه تمرینی نیز سرعت نوارگردان به طور معکوس کاهش یافت تا به سرعت اولیه برسد [۱۹].

نحوه تهیه و تزریق داروی Dox

از هفته نهم، به آزمودنی‌های تحقیق به مدت ۲ هفته و همزمان با مدل‌سازی سالمندی و برنامه تمرینات ورزشی، داروی Dox هیدروکلراید (Pfizer، استرالیا) با یک دوز تجمعی ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۱۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) هر روز به صورت زیرصفاقی تزریق شد. همچنین با در نظر گرفتن آثار استرس احتمالی ناشی از تزریق در گروه‌های دریافت کننده دارو و به منظور یکسان‌سازی شرایط همه آزمودنی‌ها به گروه‌های دیگر نیز ۱ واحد انسولینی سالین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن‌شان به صورت زیر صفاقی تزریق شد [۳۵].

برداشت بافت

آزمودنی‌های تمام گروه‌های تحقیق در شرایط استراحت ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی یا ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق Dox (یا سالین) با کاتامین (Ketamine) (۵۰-۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (xylazine) (۵-۳ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) بیهوش [۱۹] شدند. سپس قلب

هفتنه‌ای، از نزد ویستار با میانگین وزنی ۲۶۰ گرم از مرکز انتیتو پاستور خریداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. کلیه موش‌ها در شرایط کترول شده محیطی با میانگین دمای ۲۲±۳ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد، چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، به صورت گروه‌های ۴ سر موش در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و با دسترسی آزاد به آب نگهداری شدند. طی دوره پژوهش غذای ساخت شرکت بهپرور (ایران) به صورت پلت و با توجه به وزن کشی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوان قرار داده می‌شد [۳۱]. در پژوهش حاضر، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات بر طبق رهنماههای انجمن فیزیولوژی آمریکا رعایت شد.

نحوه ایجاد مدل سالمندی

پس از یک هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید با توجه به هدف پژوهش، مدل‌سازی سالمندی به طور تصادفی روی ۳۵ سر از آن‌ها انجام گرفت و ۷ سر دیگر نیز بدون ایجاد سالمندی [کترول جوان (Y)] باقی ماندند. برای ایجاد مدل سالمندی، از دی گالاکتوز (Sigma آمریکا) محلول در نرمال سالین ۰/۹ درصد استفاده شد. در گروه‌های سالمند، روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن محلول دی گالاکتوز به صورت درون صفاقی و به مدت ۹ هفته تزریق شد [۳۴-۳۲]. رت‌ها پس از شروع مدل‌سازی سالمندی، از هفته چهارم به بعد به طور تصادفی در ۵ گروه ۷ تایی: کترول سالمند (A)، سالمند + دوکسوروبیسین (AD)، سالمند + سالین (AS) و سالمند تمرین هوازی + دوکسوروبیسین (AExD)، سالمند تمرین هوازی + سالین (AExS) قرار گرفتند.

برنامه تمرین ورزشی تحقیق

قبل از اجرای برنامه تمرین هوازی، به منظور آشنایی آزمودنی‌ها با نحوه انجام برنامه، برنامه تمرینی سبک شامل ۵ جلسه راه رفتن و دویلن روی نوارگردان، با سرعت ۵ تا ۸ متر

اثر تمرين هوازی بر مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده بطن چپ متعاقب القای دوکسوروبیسين

حذف DNA ژنومی به مدت ۲ دقیقه در buffer در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. بعد از این مرحله نمونه‌های RNA برای ساخت cDNA آماده شدند. واکنش کلی در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد و سپس یک مرحله انکوباسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد انجام شد. به دنبال Polymerase Chain سنتز cDNA واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) صورت گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Real time-PCR)

برای اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده Bax و Bcl-2 بافت قلبی از روش کمی PCR با استفاده از Primix syber green II (Applied Biosystems Step One) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر (شامل ۱ میکرولیتر cDNA، ۱ میکرولیتر آغازگر پیشرو (Forward primer)، ۱ میکرولیتر آغازگر (Reverse)، ۷ میکرولیتر آب فاقد DNA و RNA (آب Depc) و ۱۰ میکرولیتر syber green) و هر واکنش به صورت دوبار تکرار صورت پذیرفت. طراحی آغازگرها بر اساس اطلاعات در بنك ژئی NBCI و توسط شرکت پیش گام (ایران) انجام شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است، ضمن این‌که از GAPDH به عنوان ژن مرجع استفاده شد. برنامه دمایی مورد استفاده در PCR شامل: ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه - ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ چرخه) بود. نمودار ذوب (Melt) برای بررسی درستی داده‌ها و نمودار استاندارد به منظور بهینه‌سازی شرایط آزمایش رسم شد و بیان داده‌ها توسط نسبت بیان ژن‌های مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده Bax و Bcl-2 به ژن مرجع محاسبه شد (شکل ۱). میزان بیان ژن‌های Bax و Bcl-2 مورد نظر نیز با روش $\Delta\Delta CT$ ۲ اندازه‌گیری شد.

حیوان از ناحیه ریشه آثورت جدا و بلا فاصله پس از شستشو توسط آب دیونیزه، قسمتی از بطن چپ برای بررسی بیان ژن‌های مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده Bax و Bcl-2 جدا و بلا فاصله در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد فریز شد.

اندازه‌گیری بیان ژن‌های مرگ سلولی

برنامه‌ریزی شده Bax و Bcl-2 قلبی

cDNA و سنتز RNA

استخراج RNA به وسیله QIAzol® Lysis Reagent (Qiagen، آلمان) و کلروفرم (Clorofor، آلمان) به روش دستی و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. بدین صورت که حدود ۵۰ میلی گرم بافت بطن چپ به صورت جداگانه، برای استخراج RNA کل (total RNA) به نسبت ۱ به ۱۰ در شد و به منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در ۴ درجه سانتی گراد، ۱۰ دقیقه و ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ۴ درجه سانتی گراد، ۱۵ دقیقه و ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شد. بخش محتوی RNA برداشته شد و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ درجه سانتی گراد، ۱۰ دقیقه و ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. پلاک حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰ میکرولیتر آب فاقد RNases حل شد. غلطت RNA مورد سنجش واقع شد (Eppendorff، آلمان) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ تا ۱/۸ به عنوان تخلیص مطلوب تعريف شد. سنتز QuantiTect Reverse Transcription cDNA با استفاده از kit (Qiagen، آلمان) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. به طور خلاصه ابتدا نمونه‌های RNA به منظور

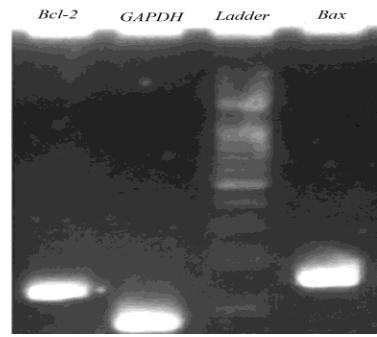
جدول ۱ توالی آغازگرهای استفاده شده برای بررسی بیان ژن با روش Real time PCR

نام ژن	کد ژن	توالی آغازگر	طول مخصوص (جفت باز)	دماهی ذوب (درجه سانتی گراد)	آنچاگ شد.
Bax	NM_017059.2	5'-GCAAACCTGGTGGTCAGG-3' 5'-CAGCCACAAAGATGGTCAG-3'	۸۴/۲۶	۱۸۳	
Bcl-2	NM_016993.1	5'-TCTTGAGTTCGGTGGGTC-3' 5'-GTTCCACAAAGGCATCCAG-3'	۸۸/۵۸	۱۵۳	
GAPDH	NM_017008.4	5'-GACATGCCGCTGGAGAAC-3' 5'-AGCCCAGGATGCCTTAGT-3'	۷۹/۹۳	۹۲	

آنچاگ شد.

نتایج

میزان بقا، ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق Dox در همه گروه‌ها (کترل جوان، کترل سالمند، سالمند سالین، سالمند Dox، سالمند تمرين هوازی + Dox+ و سالمند تمرين هوازی + سالین) صد درصد بود. وزن بدن و وزن قلب مطلق و نسبی در جدول ۲ و روند وزن‌گیری در شکل ۱ نشان داده شده است. در شروع، تفاوت قابل توجهی در میانگین وزن بدن میان گروه‌ها وجود نداشت. Dox موجب کاهش معنی‌دار وزن بدن در هر دو گروه سالمند Dox و سالمند تمرين هوازی + Dox+ طی دوره درمان ۲ هفته‌ای شد ($P<0.05$). همچنین القای مزمن Dox منجر به کاهش معنی‌دار وزن قلب نسبت به گروه‌های Y، AS و AExS شد. از طرفی ۶ هفته تمرين دویدين هوازی موجب کاهش روند وزن‌گیری (شکل ۱) نسبت به سایر گروه‌های بی تمرين شد ولی به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P>0.05$). همچنین ۶ هفته تمرين دویدين هوازی موجب افزایش وزن قلب نسبت به سایر گروه‌ها شد ولی این افزایش فقط نسبت به گروه AD و AExD معنی‌دار بود ($P<0.05$).



شکل ۱ بررسی درستی آغازگرهای استفاده شده برای انجام Real time PCR روی ژل آگاروز؛ طول قطعات پس از انجام ۴۰ مرحله تکثیر در دستگاه PCR متناسب با قطعه استاندارد (Ladder) با اندازه قطعات ۱۰۰ جفت باز نشان‌دهنده درستی عملکرد آغازگر است.

تجزیه و تحلیل آماری

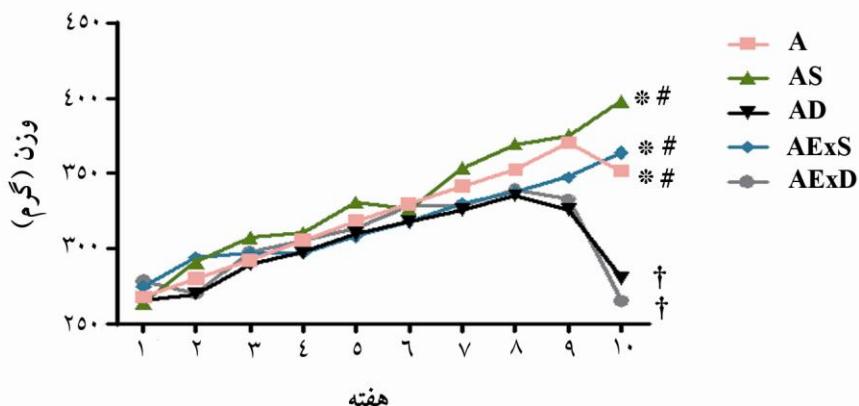
برای تجزیه و تحلیل یافته‌های پژوهش از آنالیز واریانس یک طرفه (one way analysis of variance: ANOVA)، برای مقایسه بین گروه‌های مختلف از آزمون تعییبی توکی (Tukey test) و برای بررسی روند وزن‌گیری از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد. کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ و در سطح معنی‌داری ($P<0.05$)

جدول ۲ میانگین وزن رت‌ها در ابتدا و انتهای پژوهش، میانگین وزن قلب و وزن قلب به وزن بدن در گروه‌ها

گروه	میانگین وزن ابتداء انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن انتها انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن انتها انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن ابتداء انحراف معیار (گرم)
(N=7)Y	۲۵۶/۹±۵۴/۵	۳۴۷/۱۴±۴۴/۰ *	۱/۳۸۹±۰/۲۴ *	۰/۰۰۳۷±۰/۰۰۰۴
(N=7)A	۲۵۶/۴±۵۰/۵	۳۴۷/۱±۶۱ *	۱/۳۱۱±۰/۱۹ *	۰/۰۰۳۷±۰/۰۰۰۵
(N=7)AS	۲۶۲/۳±۴۳/۹	۳۵۹/۹±۶۲/۶ *	۱/۴۰۳±۰/۱۷ *	۰/۰۰۳۵±۰/۰۰۰۲
(N=7)AD	۲۶۵/۷±۴۳/۶	۳۲۶/۱±۴۲/۴ *	۱/۰۷۳±۰/۱۱ †	۰/۰۰۳۹±۰/۰۰۰۵
(N=7)AExS	۲۷۲/۸±۲۷/۷	۳۵۶/۶±۳۹/۲ *	۱/۴۲۳±۰/۲۱ *	۰/۰۰۳۹±۰/۰۰۰۴
(N=7)AExD	۲۶۷/۲±۲۷/۶	۳۳۶/۹±۲۵/۷ *	۰/۹۸۶±۰/۱۲ †	۰/۰۰۳۷±۰/۰۰۰۴

* اختلاف معنی‌دار با گروه AD، # اختلاف معنی‌دار با گروه AExS، † اختلاف معنی‌دار با گروه AExD ($P<0.05$).

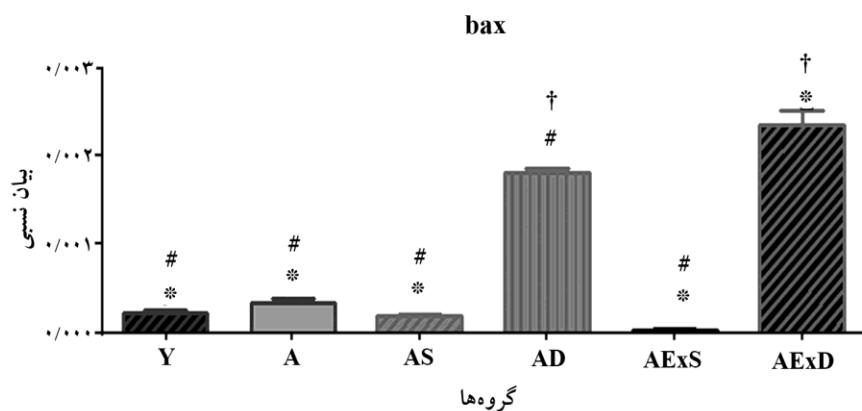
اثر تمرین هوایی بر مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده بطن چپ متعاقب القای دوکسوروبیسین



شکل ۱ روند وزن‌گیری گروه‌ها از ابتداء تا انتهای پژوهش؛ Y (N=۷) AExD، (N=۷) AExS، (N=۷) AD، (N=۷) AS، (N=۷) A. * اختلاف معنی‌دار با گروه AD، # اختلاف معنی‌دار با گروه AExS، † اختلاف معنی‌دار با گروه AExD ($P<0.05$)

تمرین هوایی منجر به کاهش میزان بیان ژن Bax در گروه سالم‌مند تمرین هوایی + سالین (AExS) در مقایسه با سایر گروه‌ها شد ولی این کاهش فقط نسبت به گروه‌های AD و AExD معنی‌دار بود ($P<0.05$). از طرفی ۶ هفته تمرین هوایی به همراه تزریق Dox موجب افزایش معنی‌دار میزان بیان ژن Bax در مقایسه با سایر گروه‌ها (Y, A, AS, AExS) شد ($P<0.05$) (شکل ۲).

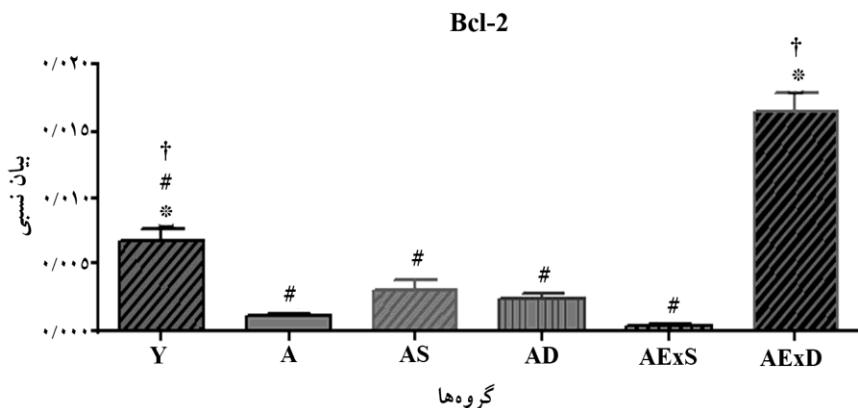
شکل ۲ میانگین میزان بیان ژن Bax بافت قلب را در گروه‌های مختلف پژوهش نشان می‌دهد. در گروه سالم‌مند میزان بیان ژن Bax در مقایسه با گروه جوان بیشتر بود ولی این افزایش معنی‌دار نبود. تزریق Dox در گروه سالم‌مند Dox (AD) موجب افزایش معنی‌دار میزان بیان ژن Bax در مقایسه با گروه‌های Y, A, AS و AExS شد ولی نسبت به گروه AExD کاهش معنی‌دار داشت ($P<0.05$). همچنین ۶ هفته



شکل ۲ میانگین بیان ژن Bax بطن چپ قلب گروه‌های مختلف مورد آزمون در پایان آزمایش با روش Real time PCR: * اختلاف معنی‌دار با گروه AD، # اختلاف معنی‌دار با گروه AExS، † اختلاف معنی‌دار با گروه AExD ($P<0.05$)

مقایسه با گروه Y و AExD شد ($P<=0.05$). همچنین ۶ هفته تمرین هوازی همراه تزریق Dox موجب افزایش معنی داری بیان ژن 2 در گروه AExD نسبت به سایر گروه ها (Y, AS, A, AD و AExS) ($P<=0.05$) شد (شکل ۳).

شکل ۳ میانگین میزان بیان ژن 2 Bcl-2 بافت قلب را در گروه های مختلف پژوهش نشان می دهد. در گروه سالمند میزان بیان ژن 2 Bcl-2 در مقایسه با گروه جوان به طور معنی داری پایین تر بود. تزریق Dox در گروه سالمند Dox معنی دار کاهش معنی داری میزان بیان ژن 2 Bcl-2 در (AD) موجب کاهش معنی داری میزان بیان ژن 2 Bcl-2 در



شکل ۳ میانگین بیان ژن 2 Bcl-2 بطن چپ قلب گروه های مختلف مورد آزمون در پایان آزمایش با روش Real time PCR. # اختلاف معنی دار با گروه AD، AExD، AExS، † اختلاف معنی دار با گروه AExD، * اختلاف معنی دار با گروه AExS ($P<0.05$).

موجب افزایش معنی دار نسبت Bax/Bcl-2 در مقایسه با گروه های Y, AS, AExS و AExD شد ($P<=0.05$). از طرفی ۶ هفته تمرین هوازی منجر به کاهش نسبت Bcl-2 در مقایسه با گروه های A, AS, AExD و AExS شد ($P<=0.05$) ولی این کاهش فقط نسبت به گروه AD معنی دار بود ($P<=0.05$). همچنین ۶ هفته تمرین هوازی به همراه تزریق Dox موجب کاهش معنی دار نسبت Bax/Bcl-2 در مقایسه با گروه AD شد ($P<=0.05$).

جدول ۳ نسبت بیان ژن Bax به 2 Bcl-2 در گروه های مختلف میانگین انحراف معیار

گروه	نسبت Bax/Bcl-2
(N=7) Y	۰/۰۴۳۱±۰/۰۵۴ *
(N=7) A	۰/۸۵۶±۰/۱۸ *
(N=7) AS	۰/۲۲۷۷±۰/۳۱ *
(N=7) AD	۰/۷۳۸۰±۰/۲۹ #†
(N=7) AExS	۰/۰۹۵۱۵±۰/۰۴ *
(N=7) AExD	۰/۱۵۶۸±۰/۰۶ *

* اختلاف معنی دار با گروه AD، # اختلاف معنی دار با گروه AExD، † اختلاف معنی دار با گروه AExS ($P<0.05$).

بحث

نتایج این مطالعه برای اولین بار نشان داد که تمرین هوازی قبل و طی درمان با Dox تا حدی از مرگ سلولی برنامه بیزی شده قلب ناشی از القای Dox در موش های صحرایی نر مدل سالمندی پیشگیری می کند. به علاوه نتایج این مطالعه نشان داد

جدول ۳ مقادیر نسبت بیان ژن 2 Bax/Bcl-2 قلب را در گروه های مختلف پژوهش حاضر نشان می دهد. در گروه سالمند نسبت بیان ژن 2 Bax/Bcl-2 در مقایسه با گروه جوان به طور معنی داری بالاتر بود ($P<0.05$). الفای مزمن Dox

اثر تمرین هوازی بر مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده بطن چپ متعاقب القای دوکسوروبیسین

این امر بدیهی به نظر می‌رسد. این یافته همسو با پژوهش‌های جعفری و همکاران (۲۰۱۵) و چیکو و همکاران (۲۰۰۶) بود که نشان دادند ۱۲ هفته تمرین ورزشی موجب کاهش وزن‌گیری موش‌های تمرین کرده در مقایسه با موش‌های بدون تمرین می‌شود [۱۸]. به علاوه این موضوع را می‌توان با توجه به این مطلب توجیه کرد که موش‌های نر فعالیت بدنی افزایش یافته را با بالا بردن دریافت کالری جبران نمی‌کنند، در نتیجه در یک میانگین پایین تر افزایش وزن در طول زمان در مقایسه با حیوانات همسن بی تمرین قرار دارند [۲۴]. از طرفی ۶ هفته تمرین دویلن هوازی موجب افزایش وزن قلب نسبت به سایر AExD گروه‌ها شد ولی این افزایش فقط نسبت گروه AD و معنی دار بود ($=P<0.05$). این یافته همسو با پژوهش کووک (Kwak) و همکاران (۲۰۰۶) است که نشان دادند تمرین ورزشی محافظت معنی دار در مقابل کاهش میوسیت‌های قلبی، کاهش تعداد هسته‌های تارهای قلب، هایپرتروفی واکنشی میوسیت‌های باقی مانده و افزایش بافت رابط در بطن چپ قلب موش سالمند را فراهم می‌کند [۳۷]. همچنین با پژوهش جعفری و همکاران (۲۰۱۵) همسو بود، آن‌ها نشان دادند که تمرین ورزشی هایپرتروفی قلب شامل وزن قلب و وزن قلب/وزن بدن را افزایش می‌دهد [۳۸]. مطالعات نشان داده‌اند که تمرین هوازی منجر به هایپرتروفی قابل توجه قلب می‌شود که به‌وسیله سنگینی و بزرگتر بودن نسبی و مطلق قلب در حیوانات تمرین کرده نسبت به حیوانات بی‌تمرین نمایان می‌شود. علاوه بر این تمرین هوازی هایپرتروفی فیزیولوژیک Insulin قلب را از طریق افزایش عامل رشد انسولین (Akt) و Growth Factor 1: IGF1 تحریک می‌کند [۳۹]. این مطلب با اطلاعات گزارش شده چیکو و همکاران (۲۰۰۶) از موش‌های تمرین کرده به مدت ۱۲ هفته نیز همسو است [۲۴].

در مطالعه حاضر Dox باعث افزایش بیان ژن پیش بونده مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده Bax و تا حدودی موجب کاهش بیان ژن ضد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده Bcl-2 و افزایش

که تمرین هوازی تا حدودی موجب کاهش فرآیند مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده ناشی از سالمندی می‌شود.

گزارش‌ها نشان دهنده آن است که درمان به‌وسیله Dox غالب به بافت‌های غیر هدف آسیب می‌رساند و از آثار سمتی Dox بر قلب، به عنوان مهم‌ترین عوارض جانبی این دارو نام برده می‌شود [۳۱]. اخیراً نشان داده شده است که Dox موجب مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده در قلب موش می‌شود و این پدیده حداقل در بخشی به مسیرهای با واسطه میتوکندری Dox نسبت داده شده است [۳]. در واقع عوارض جانبی منعی Dox غیرقابل برگشت هستند، بنابراین دانستن تغییرات بیان ژن که در قلب پس از اجرای Dox رخ می‌دهد، می‌تواند دانش مورد نیاز برای توسعه اقدامات متقابل درمانی را فراهم نماید [۲۷]. پژوهش حاضر نشان داد القای مزمن Dox موجب کاهش وزن طی دو هفته درمان نسبت به قبل از آن در گروه‌های دریافت کننده Dox شد. این یافته با پژوهش چیکو (Chicco) و همکاران (۲۰۰۶) همسو بود، آن‌ها نشان دادند درمان Dox منجر به از دست دادن قابل توجهی از وزن بدن به دنبال درمان Dox در موش‌ها شد [۱۸]. کاهش وزن‌گیری به دنبال درمان Dox احتمالاً می‌تواند به کاهش مصرف مواد غذایی بعد از درمان و مهار ستر پروتئین در اثر داروی ضد سرطان نسبت داده شود. معمولاً تزریق دوکسوروبیسین موجب تأخیر افزایش وزن می‌شود که می‌تواند به‌دلیل سمیت سیستمیک آن باشد [۳۶]. همچنین القای مزمن Dox منجر به کاهش معنی دار وزن قلب در گروه‌های دریافت کننده Dox شد که همسو با پژوهش چیکو و همکاران (۲۰۰۶) است، هر چند آن‌ها اثر قابل توجه ناشی از درمان Dox در میزان وزن قلب به وزن بدن را نیز مشاهده کردند که شاید به علت اختلاف دوز تزریقی با پژوهش حاضر باشد [۱۸].

نتیجه دیگر پژوهش حاضر، نشان دهنده این است که حیوانات تمرین کرده وزن‌گیری کمتری نسبت به حیوانات گروه‌های بی‌تمرین داشتند که البته معنی دار نبود و با توجه به افزایش کالری مصرفی متعاقب فعالیت بدنی گروه‌های تمرین،

ژن *Bax* از طرفی کاهش بیان ژن *Bcl-2* و افزایش نسبت-*Bax/Bcl-2* بعد از تزریق *Dox*. ناپایداری غشای میتوکندری افزایش یافت و در نتیجه نفوذپذیری آن نسبت به سیتوکروم C افزایش پیدا کرد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تزریق *Dox* باعث آسیب غشای میتوکندری و در نتیجه ایجاد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده از طریق مسیر داخلی در میوکارد موش صحرابی شده است.

همچنین دیگر یافته اصلی مطالعه حاضر نشانگر نقش پیشگیرانه تمرينات هوایی منظم روی تردیمیل در راستای کاهش آثار سمیت قلبی ناشی از تزریق *Dox* در موش‌های صحرابی نر مدل سالموندی بود. با توجه به بیان بیشتر ژن پیش برندۀ مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده *Bax* و افزایش بسیار بیشتر بیان ژن ضد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده *Bcl-2* و نیز کاهش نسبت-*Bax/Bcl-2* در گروه تمرين کرده درمان شده با *Dox* نسبت به موش‌های تمرين نکرده درمان شده با *Dox* به نظر می‌رسد مرگ سلولی بیشتری در گروه تمرين نکرده (AD) اتفاق افتاده باشد. در واقع تمرين ورزشی هوایی قبل و طی درمان *Dox* به طور نسبی موجب محافظت سلول‌های قلب از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده ناشی از اجرای *Dox* شده است. این یافته هم‌سو با پژوهش آنسنائو و همکاران (۲۰۰۵) است که نشان دادند تمرين استقامتی افزایش ناشی از *Dox* را در پروتئین کربونیل، مالون دی‌آلدئید، *Bax*، نسبت-*Bax/Bcl-XL* و فعالیت کاسپاز ۳ بافت را مهار می‌کند [۳]. همچنین با مطالعه کاوازیس و همکاران (۲۰۱۰) هم‌سو بود؛ نتایج آن‌ها نشان داد که تزریق *Dox* منجر به اختلال عملکرد میتوکندری قلب، فعل سازی پروتئازها و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده می‌شود. در حالی که تمرين ورزشی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان قلبی و پروتئین HSP72 را افزایش داد و از میوسیت‌های قلبی در مقابل آسیب میتوکندری ناشی از *Dox*، فعل سازی پروتئاز و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده محافظت کرد [۲۷]. در میان مکانیسم‌هایی که تمرين ورزشی، مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده ناشی از *Dox* را در قلب موش محدود می‌کند می‌توان به

نسبت-*Bax/Bcl-2* در گروه *AD* نسبت به گروه سالین شد. این یافته هم‌سو با پژوهش‌های آنسنائو و همکاران (۲۰۰۵) و کاوازیس (Kavazis) و همکاران (Kavazis) است که نشان دادند *Dox* باعث اختلال عملکرد تنفس میتوکندری‌ایی، آسیب اکسیداتیو و ضایعات هیستوپاتولوژیک و راه انداختن مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده می‌شود [۲۷، ۳]. همچنین مطالعات قبلی روی کشت کاردیومایوسیت‌ها نیز نشان داد که *Dox* موجب افزایش بیان ژن *Bax* و از طرفی موجب کاهش بیان ژن *Bcl-2* و در نهایت موجب القای مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده در کاردیومایوسیت‌ها شده است [۴۱، ۴۲]. از طرفی این یافته با پژوهش چایلدرز (Childs) و همکاران (Childs) (۲۰۰۲) ناهم‌سو است که نشان دادند ۴ روز پس از تزریق یک دوز *Dox* چندین پاسخ تطبیقی از جمله افزایش نسبت *Bax/Bcl-2* رخ می‌دهد [۴۲]. پروتئین‌های خاتواده *Bcl-2* یکپارچگی غشای خارجی میتوکندری را حفظ می‌کند و از اعضا ضد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و پیش برندۀ مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده تشکیل شده است [۴۲]. گروه ضد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده شامل *Bcl-XL* و *Bcl-2* است که از آزاد شدن سیتوکروم C به درون سیتوزول جلوگیری می‌کند و گروه پیش برندۀ مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده از *Bid* و *Bax* تشکیل شده است که موجب آزاد شدن سیتوکروم C از میتوکندری به درون سیتوزول می‌شود و در نتیجه فعال شدن کاسپاز ۳ را تنظیم می‌کند [۹]. اعضاي ضد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و پیش برندۀ مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده به صورت هترودایمر در می‌آیند و به نظر می‌رسد که اعمال یکدیگر را معین می‌کنند. حدس زده می‌شود که غلظت‌های مشابه وابسته آن‌ها، مانند یک تنظیم‌کننده قوی برای برنامه مرگ سلولی عمل می‌کند [۴۳]. در واقع نسبت پروتئین پیش برندۀ مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده / ضد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده حساسیت سلول‌ها به پیام مرگ را تعیین می‌کند [۴۴] و نیز تمامیت هسته سلول قلب و بقای سلول را به وسیله کتلول نفوذپذیری غشای میتوکندری و فعل سازی کاسپازها تنظیم می‌کند [۴۵]. در مطالعه حاضر نیز با افزایش بیان

اثر تمرین هوازی بر مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده بطن چپ متعاقب القای دوکسوروبیسین

می دهد [۳۷]. همچنین جعفری و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند بیان ژن Bax و نسبت Bax/Bcl-2 در گروه تمرین کرده به طور قابل توجهی پایین‌تر از گروه بی تمرین است [۳۸]. به طور خلاصه، نتایج این مطالعه نشان داد که Dox موجب کاهش بیان ژن Bcl-2 و افزایش بیان ژن Bax و نسبت Bax/Bcl-2 می‌شود. به علاوه تمرین هوازی در موش‌های سالموند می‌تواند از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده کاردیومایوسیت‌ها ناشی از سالموندی پیشگیری نماید. همچنین با توجه به کاهش معنی‌دار در نسبت Bax/Bcl-2 در موش‌های گروه تمرین کرده درمان شده با Dox در بافت قلب، نسبت به کنترل‌های بی‌تمرین می‌توان نتیجه گرفت که تمرین ورزشی هوازی قبل و طی درمان Dox می‌تواند به عنوان راهبرد غیر دارویی، موجب محافظت سلول‌های قلب از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده ناشی از القای Dox شود؛ هرچند که مطالعات بعدی برای یافتن سایر مسیرهایی که Dox در آن‌ها دخالت می‌کند؛ مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل رساله دکتری رشته تربیت بدنی و علوم ورزشی در گرایش فیزیولوژی ورزش است که با حمایت مالی دانشگاه مازندران انجام شده است.

افزایش بیان HSP و سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide Dismutase: SOD) در اثر تمرین، اشاره کرد. نقش محافظتی این پروتئین‌های مهم به‌وسیله پیشگیری از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده مشخص شده است [۳]. همچنین افزایش در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان میتوکندریایی قلب می‌تواند در محافظت قلبی ناشی از تمرین ورزشی قبل و حین اجرای Dox شرکت کند [۲۷]. نشان داده شده است به دنبال تمرین کردن مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده کاردیومایوسیت‌ها کمتر، تکثیر کاردیومایوسیت‌ها بیشتر و تعویت استخراج پیش‌ساز میوکارد اتفاق می‌افتد [۴۵، ۲۲].

یافته دیگر مطالعه حاضر نشان داد که ۶ هفته تمرین هوازی در موش‌های سالموند (بدون تزریق Dox) منجر به کاهش میزان بیان ژن پیش‌برنده مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و کاهش نسبت Bax/Bcl-2 نسبت به گروه سالموند بدون تمرین شد. این مطلب ممکن است نشان دهنده کاهش فرآیند مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده کاردیومایوسیت‌ها ناشی از فرآیند سالموندی نسبت داد. این یافته همسو با پژوهش کووک و همکاران (۲۰۰۶) است که نشان دادند تمرین ورزشی در سالموندی سطوح کاسپاز ۹ و نسبت Bax/Bcl-2 را از طریق کاهش بیان پروتئین Bax و افزایش سطوح Bcl-2 کاهش

منابع

- [1] 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.
- [2] Kim EJ, Hwang S. Effects of aerobic exercise on antioxidants in rat models with cardiomyopath. *Phys Ther Rehabil Sci* 2015; 4(1): 17-21.
- [3] Ascensão A, Magalhães J, Soares JM, Ferreira R, Neuparth MJ, Marques F, Oliveira PJ, Duarte JA. Moderate endurance training prevents doxorubicin-induced in vivo mitochondrialopathy and reduces the development of cardiac apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289(2): H722-31.

- [4] Frias MA, Lang U, Gerber-Wicht C, James RW. Native and reconstituted HDL protect cardiomyocytes from doxorubicin-induced apoptosis. *Cardiovasc Res* 2010; 85(1): 118-26.
- [5] Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Balça MM, Moreira PI, Oliveira PJ, Magalhães J, Ascensão A. Physical exercise mitigates doxorubicin-induced brain cortex and cerebellum mitochondrial alterations and cellular quality control signaling. *Mitochondrion* 2016; 26: 43-57.
- [6] Kotamraju S, Konorev EA, Joseph J, Kalyanaraman B. Doxorubicin-induced apoptosis in endothelial cells and cardiomyocytes is ameliorated by nitrone spin traps and ebselen. Role of reactive oxygen and nitrogen species. *J Biol Chem* 2000; 275(43): 33585-92.
- [7] Chandran K, Aggarwal D, Migrino RQ, Joseph J, McAllister D, Konorev EA, Antholine WE, Zielonka J, Srinivasan S, Avadhani NG, Kalyanaraman B. Doxorubicin inactivates myocardial cytochrome c oxidase in rats: cardioprotection by Mito-Q. *Biophys J* 2009; 96(4): 1388-98.
- [8] Frias MA, Somers S, Gerber-Wicht C, Opie LH, Lecour S, Lang U. The PGE2-Stat3 interaction in doxorubicin-induced myocardial apoptosis. *Cardiovasc Res* 2008; 80(1): 69-77.
- [9] Panaretakis T, Pokrovskaja K, Shoshan MC, Grandér D. Activation of Bak, Bax, and BH3-only proteins in the apoptotic response to doxorubicin. *J Biol Chem* 2002; 277(46): 44317-26.
- [10] De Angelis A, Piegari E, Cappetta D, Marino L, Filippelli A, Berrino L, Ferreira-
- Martins J, Zheng H, Hosoda T, Rota M, Urbanek K, Kajstura J, Leri A, Rossi F, Anversa P. Anthracycline cardiomyopathy is mediated by depletion of the cardiac stem cell pool and is rescued by restoration of progenitor cell function. *Circulation* 2010; 121(2): 276-92.
- [11] Soufi FG, Farajnia S, Aslanabadi N, Ahmadiasl N, Alipour M, Alipour M, Doustar Y, Abdolalizadeh J, Sheikhzadeh F. Long-term exercise training affects age-induced changes in HSP70 and apoptosis in rat heart. *Gen Physiol Biophys* 2008; 27(4): 263-70.
- [12] Maejima Y, Adachi S, Ito H, Hirao K, Isobe M. Induction of premature senescence in cardiomyocytes by doxorubicin as a novel mechanism of myocardial damage. *Aging Cell* 2008; 7(2): 125-36.
- [13] Piegari E, De Angelis A, Cappetta D, Russo R, Esposito G, Costantino S, Graiani G, Frati C, Prezioso L, Berrino L, Urbanek K, Quaini F, Rossi F. Doxorubicin induces senescence and impairs function of human cardiac progenitor cells. *Basic Res Cardiol* 2013; 108(2): 334.
- [14] Sturgeon K, Schadler K, Muthukumaran G, Ding D, Bajulaiye A, Thomas NJ, Ferrari V, Ryeom S, Libonati JR. Concomitant low-dose doxorubicin treatment and exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2014; 307(6): R685-92.
- [15] Hydock DS, Parry TL, Jensen BT, Lien CY, Schneider CM, Hayward R. Effects of endurance training on combined goserelin acetate and doxorubicin treatment-induced cardiac dysfunction. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68(3): 685-92.

اثر تمرین هوایی بر مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده بطن چپ متعاقب القای دوکسوروبیسین

- [16] Ascensão A, Lumini-Oliveira J, Machado NG, Ferreira RM, Gonçalves IO, Moreira AC, Marques F, Sardão VA, Oliveira PJ, Magalhães J. Acute exercise protects against calcium-induced cardiac mitochondrial permeability transition pore opening in doxorubicin-treated rats. *Clin Sci (Lond)* 2011; 120(1): 37-49.
- [17] Ascensão A, Ferreira R, Oliveira PJ, Magalhães J. Effects of endurance training and acute Doxorubicin treatment on rat heart mitochondrial alterations induced by in vitro anoxia-reoxygenation. *Cardiovasc Toxicol* 2006; 6(3-4): 159-72.
- [18] Chicco AJ, Hydock DS, Schneider CM, Hayward R. Low-intensity exercise training during doxorubicin treatment protects against cardiotoxicity. *J Appl Physiol* (1985) 2006; 100(2): 519-27.
- [19] Shirinbayan V, Dabidi Roshan V, Mahjoub S. The therapeutic effect of endurance training on adriamycin-induced cardiac stress in rats. *Iranian Journal of Health and Physical Activity* 2013; 4(2): 8-17.
- [20] Dolinsky VW, Rogan KJ, Sung MM, Zordoky BN, Haykowsky MJ, Young ME, Jones LW, Dyck JR. Both aerobic exercise and resveratrol supplementation attenuate doxorubicin-induced cardiac injury in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013; 305(2): E243-53.
- [21] Lien CY, Jensen BT, Hydock DS, Hayward R. Short-term exercise training attenuates acute doxorubicin cardiotoxicity. *J Physiol Biochem* 2015; 71(4): 669-78.
- [22] Kolwicz SC, MacDonnell SM, Renna BF, Reger PO, Seqqat R, Rafiq K, Kendrick ZV, Houser SR, Sabri A, Libonati JR. Left ventricular remodeling with exercise in hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297(4): H1361-8.
- [23] Kanter MM, Hamlin RL, Unverferth DV, Davis HW, Merola AJ. Effect of exercise training on antioxidant enzymes and cardiotoxicity of doxorubicin. *J Appl Physiol* (1985) 1985; 59(4): 1298-303.
- [24] Chicco AJ, Schneider CM, Hayward R.. Exercise training attenuates acute doxorubicin-induced cardiac dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47(2): 182-9.
- [25] Wonders KY, Hydock DS, Greufe S, Schneider CM, Hayward R. Endurance exercise training preserves cardiac function in rats receiving doxorubicin and the HER-2 inhibitor GW2974. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 64(6): 1105-13.
- [26] Chicco AJ, Schneider CM, Hayward R. Voluntary exercise protects against acute doxorubicin cardiotoxicity in the isolated perfused rat heart. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 289(2): R424-R431.
- [27] 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(5): H1515-24.
- [28] Hydock DS, Wonders KY, Schneider CM, Hayward R. Voluntary wheel running in rats receiving doxorubicin: effects on running activity and cardiac myosin heavy chain. *Anticancer Res* 2009; 29(11): 4401-7.
- [29] Hydock DS, Lien CY, Jensen BT, Schneider CM, Hayward R. Exercise preconditioning

- provides long-term protection against early chronic doxorubicin cardiotoxicity. *Integr Cancer Ther* 2011; 10(1): 47-57.
- [30] Wonders KY, Hydock DS, Schneider CM, Hayward R. Acute exercise protects against doxorubicin cardiotoxicity. *Integr Cancer Ther* 2008; 7(3): 147-54.
- [31] 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; 6(31): 2380-8.
- [32] Kim SY, Lee J. Exercise Training suppresses vascular fibrosis in aging obesity induced rats. *J Exerc Nutrition Biochem* 2014; 18(2): 175-80.
- [33] Lee J, Cho JY, Kim WK. Anti-inflammation effect of Exercise and Korean red ginseng in aging model rats with diet-induced atherosclerosis. *Nutr Res Pract* 2014; 8(3): 284-91.
- [34] Chang YM, Chang HH, Kuo WW, Lin HJ, Yeh YL, Padma Viswanadha V, Tsai CC, Chen RJ, Chang HN, Huang CY. Anti-apoptotic and pro-survival effect of Alpinate Oxyphyllae Fructus (Aof) in a d-galactose-induced aging heart. *Int J Mol Sci* 2016; 17(4): 466.
- [35] Hydock DS, Lien CY, Jensen BT, Parry TL, Schneider CM, Hayward R. Rehabilitative exercise in a rat model of doxorubicin cardiotoxicity. *Exp Biol Med (Maywood)* 2012; 237(12): 1483-92.
- [36] Uhm JS, Chung WB, Yoon JS, Oh YS, Youn HJ. Effects of adriamycin and candesartan on the collagen and elastin of the aorta in rats. *Clin Hypertens* 2014; 20: 8.
- [37] Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *FASEB J* 2006; 20(6): 791-3.
- [38] Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradarani B. Effect of exercise training on Bcl-2 and Bax gene expression in the rat heart. *Gene, Cell and Tissue* 2015; 2(4): 328-33.
- [39] McMullen JR, Amirahmadi F, Woodcock EA, Schinke-Braun M, Bouwman RD, Hewitt KA, Mollica JP, Zhang L, Zhang Y, Shioi T, Buerger A, Izumo S, Jay PY, Jennings GL. Protective effects of exercise and phosphoinositide 3-kinase(p110alpha) signaling in dilated and hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(2): 612-7.
- [40] Green PS, Leeuwenburgh C. Mitochondrial dysfunction is an early indicator of doxorubicin-induced apoptosis. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1588(1): 94-101.
- [41] Chen X, Chen Y, Bi Y, Fu N, Shan C, Wang S, Aslam S, Wang PW, Xu J. Preventive cardioprotection of erythropoietin against doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Cardiovasc Drugs Ther* 2007; 21(5): 367-74.
- [42] Childs AC, Phaneuf SL, Dirks AJ, Phillips T, Leeuwenburgh C. Doxorubicin treatment in vivo causes cytochrome C release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity, and Bcl-2:Bax ratio. *Cancer Res* 2002; 62(16): 4592-8.
- [43] Honardoost M, Soleimanjahi H, Rajaei F. Apoptosis: programmed cell death. *JQUMS* 2013; 17(3): 48-57. (Persian)
- [44] Aboutaleb N, Shamsaei N, Rajabi H,

اثر تمرین هوایی بر مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده بطن چپ متعاقب القای دوکسوروبیسین

- Khaksari M, Erfani S, Nikbakht F, Motamed P, Shahbazi A. Protection of Hippocampal CA1 Neurons Against Ischemia/Reperfusion Injury by Exercise Preconditioning via Modulation of Bax/Bcl-2 Ratio and Prevention of Caspase-3 Activation. *Basic Clin Neurosci* 2016; 7(1): 21-9.
- [45] Boström P, Mann N, Wu J, Quintero PA, Plovie ER, Panáková D, Gupta RK, Xiao C, MacRae CA, Rosenzweig A, Spiegelman BM. C/EBP β controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. *Cell* 2010; 143(7): 1072-83.