



تأثیر محافظتی تمرین تناوبی هوازی با شدت بالا در مقابل سمیت قلبی ناشی از

دوکسوروبیسین در رت‌ها

خدیجه ابراهیمی^{۱*}، سیروس چوبینه^{۲**}، رضا بدل زاده^۳، رحمان سوری^۲

۱- دانشجوی دوره دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی قلب و عروق و تنفس - پردیس بین‌المللی ارس دانشگاه تهران - جلفا - ایران.

۲- دانشیار- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران - تهران - ایران.

۳- دانشیار- مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی و مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز- تبریز- ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۱۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۲

چکیده

مقدمه: استفاده بالینی از دوکسوروبیسین (DOX (Doxorubicin))، که داروی پرکاربردی در درمان انواع سرطان است، بدلیل سمیت قلبی محدود شده است. با وجود توجه فزاینده به نقش محافظتی فعالیت ورزشی به‌ویژه استقامتی با شدت متوسط در مهار سمیت قلبی ناشی از DOX، مطالعات محدودی در مورد تمرین تناوبی هوازی با شدت بالا (AIT (Aerobic High-Intensity Interval Training)) و مکانیسم‌های آن در این زمینه صورت گرفته است. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر محافظتی AIT در مقابل تغییرات بیان PGC-1 α ناشی از DOX در سلول‌های قلبی رت‌ها است.

مواد و روش‌ها: رت‌های ویستار نر به طور تصادفی به چهار گروه (هر گروه: ۶ سر) تقسیم شدند: (1) Control؛ (2) DOX (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی)؛ (3) AIT (۸ هفته، ۷ ست ۴ دقیقه‌ای با ۸۰-۹۰ درصد VO₂max مجزا شده با دوره‌های ۳ دقیقه‌ای ۶۵-۷۵ درصد VO₂max)؛ و (4) AIT+DOX (بررسی میزان بیان PGC-1 α با روش RT-PCR انجام شد. از تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی توکی برای بررسی آماری داده‌ها استفاده گردید ($\alpha < 0.05$)).

نتایج: القای DOX میزان بیان PGC-1 α را در بافت قلب کاهش می‌دهد ($P < 0.05$). میزان بیان PGC-1 α نیز پس از AIT افزایش یافت ($P < 0.05$). همچنین، AIT قبل از القای DOX نیز موجب افزایش میزان بیان PGC-1 α در گروه AIT+DOX نسبت به گروه DOX گردید ($P < 0.05$). بنابراین، AIT می‌تواند موجب مهار تغییرات بیان PGC-1 α ناشی از تزریق DOX شود.

نتیجه‌گیری: AIT به عنوان استراتژی غیردارویی مناسب می‌تواند از قلب در برابر سمیت قلبی ناشی از القای DOX محافظت کند.

واژه‌های کلیدی: دوکسوروبیسین، تمرین تناوبی، سمیت قلبی، PGC-1 α .

*نویسنده مسئول: پردیس بین‌المللی ارس دانشگاه تهران، گروه فیزیولوژی ورزشی، تلفن: ۰۹۱۴۳۹۲۰۶۱۶، نمابر: ۰۲۱۸۸۹۹۰۷۶۷، ebrahimi_kh@ut.ac.ir

Email:

**نویسنده مسئول: دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، تلفن: ۰۹۱۲۴۵۷۲۰۵۸، نمابر: ۰۲۱۸۸۹۹۰۷۶۷،

Email: choobineh@ut.ac.ir

ارجاع: ابراهیمی خدیجه، چوبینه سیروس، بدل زاده رضا، سوری رحمان. تأثیر محافظتی تمرین تناوبی هوازی با شدت بالا در مقابل سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین در رت‌ها. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۷؛ ۱۳(۳): ۴۲-۴۹.

مقدمه

دوکسوروبیسین (DOX) به عنوان اولین آنتی‌بیوتیک آنتراسیکلینی به طور گسترده‌ای به عنوان عامل شیمی‌درمانی برای تومورهای جامد و هماتولوژیک از قبیل لوسمی، سارکوم بافت نرم و سرطان پستان مورد استفاده قرار گرفته است (۱). اما سودمندی و کارایی آن توسط سمیت قلبی (آسیب قلبی غیر قابل برگشت وابسته به دوز دارو) در طی درمان یا حتی بعداً محدود شده است (۲). گزارش شده است که بیش از یک چهارم بیماران دریافت کننده DOX به دلیل سمیت قلبی فوت شده‌اند (۳). با وجود اینکه مکانیسم‌های مولکولی درگیر در سمیت قلبی ناشی از DOX به طور کامل بررسی نشده است ولی اختلال در تولید انرژی زیستی و بیوژنز میتوکندری از مکانیسم‌های مهم محسوب می‌شود (۴ و ۵).

قلب در مقایسه با سایر بافت‌ها عضوی با تقاضای بسیار بالا و پویا برای ATP است که غالب انرژی مورد نیاز را از اکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری به دست می‌آورد (۶، ۷). بنابراین، حفظ کیفیت تولید انرژی زیستی میتوکندری در سلول‌های قلبی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. قابل ذکر است که، تنظیم ظرفیت انرژی با فرایند بیوژنز میتوکندری و آبشار رونویسی پایین دست آن در ارتباط است (۸)، که در این مسیر PGC-1 α ، که تنظیم کننده اصلی بیوژنز میتوکندری است، نقش کلیدی در سازماندهی متابولیسم انرژی بازی می‌کند (۶). اثبات شده است که اختلال عملکرد قلب با نقص متابولیسم انرژی ارتباط قوی دارد (۹). همچنین، افزایش فعالیت AMP-activated protein kinase (AMPK) وابسته به افزایش بیان PGC-1 α و متعاقب آن افزایش متابولیسم بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب برای تولید ATP می‌شود (۱۰). بیان شده است که PGC-1 α ، از طریق اثرات سینرژیک‌اش با PPAR α ، می‌تواند باعث افزایش بیوژنز میتوکندری و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب شود (۹ و ۱۱). کاهش میزان بیان ژن PGC-1 α یکی از مهمترین دلایل انرژی نامطلوب قلب در بیماران با نارسایی قلبی (Heart failure) محسوب می‌شود (۷). افزایش میزان بیان PGC-1 α نیز منجر به افزایش فسفوریلاسیون اکسیداتیو در سلول‌های قلبی کشت شده می‌شود که با تولید فراوان ATP مرتبط است (۱۲).

فعالیت ورزشی به ویژه استقامتی رایج به‌عنوان یکی از راهکارهای محافظتی در مقابله با سمیت قلبی ناشی از DOX مورد توجه قرار گرفته است (۱۳، ۱۴). گزارش شده است که فعالیت ورزشی استقامتی قبل از القای DOX می‌تواند منجر به بهبود عملکرد بیوژنز میتوکندری، از طریق افزایش محتوای پروتئین‌های بیوژنز (PGC-1 α و Tfam) شود (۱۵).

همچنین به طور مشابهی بیان شده است که انجام کوتاه مدت فعالیت ورزشی رایج استقامتی توسط رت‌ها می‌تواند آسیب قلبی ناشی از DOX را از طریق افزایش بیان PGC-1 α تعدیل کند (۱۳). از سویی دیگر، تمرین اینتروال هوازی با شدت بالا (AIT) که غالباً در تمرینات ورزشی مورد استفاده قرار می‌گیرد دارای اثرات مثبتی بر سیستم قلبی-عروقی در بیماران قلبی است (۱۶). AIT می‌تواند موجب بهبود ثبات متابولیسم انرژی سلول‌های قلبی از طریق تنظیم مثبت مسیر سیگنالی AMPK-PGC-1 α در بیماران با نارسایی قلبی مزمن شود (۱۷). همچنین، کارهای تحقیقی اخیر نشان می‌دهد که سازگاری قلبی-عروقی مرتبط با فعالیت ورزشی AIT در برخی موارد بیشتر از فعالیت ورزشی استقامتی رایج است (۱۸). در این راستا بیان شد تأثیر بهبودی VO₂max ناشی از فعالیت ورزشی AIT (با شدت ۸۵ الی ۹۵ درصد VO₂max) دو برابر بیشتر از مقدر فعالیت ورزشی استقامتی (با شدت متوسط ۶۵ الی ۷۰ درصد VO₂max) است (۱۹). جارت و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی AIT قبل از القای DOX می‌تواند از طریق افزایش مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی در بافت قلبی از سمیت قلبی ناشی از القای DOX بکاهد (۲۰). با وجود این، مقالات محدودی به بررسی نقش فعالیت ورزشی AIT در زمینه جلوگیری از سمیت قلبی ناشی از DOX و سازوکارهای مولکولی آن پرداخته است. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر محافظتی فعالیت ورزشی AIT در مقابل تغییرات بیان PGC-1 α ناشی از DOX در سلول‌های قلبی رت‌ها است. ما فرض کردیم که القای DOX منجر به تغییر بیان PGC-1 α می‌شود و فعالیت ورزشی AIT می‌تواند از تغییرات PGC-1 α ناشی از DOX جلوگیری کند و از این طریق سمیت قلبی را کاهش دهد.

مواد و روش‌ها

در ابتدا ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار ۳ هفته‌ای از مرکز تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شد. حیوانات به منظور سازگاری با شرایط و محیط جدید، در دمای محیط کنترل شده ۲۱ ± ۲۱ در چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، با دسترسی آزاد به غذا و آب به مدت یک هفته نگهداری شدند. به منظور آشنا شدن با فعالیت ورزشی در نوارگردان، رت‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه طی ۵ روز تمرین کردند (جدول ۱). پس از آن، حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند (هر گروه = ۶): بیتحرک-سالین (Control)؛ درمان با DOX (DOX)؛ فعالیت ورزشی (AIT)؛ و درمان با DOX پس از فعالیت ورزشی (AIT+DOX). شایان ذکر است که کلیه روش‌های حیوانی در کمیته اخلاق تحقیقاتی موسسه تحقیقات علوم ورزشی مورد بررسی قرار گرفته و بر اساس انطباق با استانداردهای

محلول TriPure isolation reagent (ساخت شرکت Roche) طبق دستورالعمل استفاده گردید. به منظور تعیین کیفیت و کمیت RNA های استخراج شده، تراکم نوری (OD) تمام نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفوتومتر Thermo Scientific NanoDrop 2000c اندازه گیری شد. سپس، DNA مکمل (cDNA) به عنوان الگو با استفاده از کیت سنتز cDNA (ساخت شرکت TAKARA) با توجه به دستورالعمل شرکت تولیدکننده سنتز شد (۲۳).

تجزیه و تحلیل کمی توسط سیستم Step One Plus Real-time PCR انجام شد. اندازه‌گیری نسبی میزان بیان PGC-1 α در نمونه‌های بافت قلب با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن و سایرگرین مستر میکس (ساخت شرکت TAKARA) روی دستگاه Light Cycler 96 (Bio-Rad) Instrument انجام گرفت. به منظور نرمال‌سازی سطوح بیان تمام ژن‌های هدف، اندازه‌گیری موازی سطح بیان GAPDH (ژن مرجع) مورد استفاده قرار گرفت. توالی پرایمرهای PGC-1 α و ژن مرجع در جدول زیر ارائه شده است (جدول ۲). همچنین، با توجه به بیان ژن مرجع و روش پافی و همکاران (۲۰۰۱) بیان ژن‌های هدف مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (۲۴).

همه داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار IBM SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. از آزمون شاپیروویلیک برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها استفاده شد. همچنین، از تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد، سپس برای تعیین هر گونه مقایسه بین گروه‌ها، آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید ($\alpha < 0.05$).

نتایج

با توجه به جدول زیر، نتایج نشان داد که درصد وزن قلب در گروه DOX در مقایسه با گروه کنترل به طور غیرمعنی‌داری کمتر است. همچنین، درصد وزن قلب در گروه AIT و گروه AIT+DOX به ترتیب در مقایسه با گروه Control و DOX به طور غیرمعنی‌داری افزایش یافت (جدول ۳).

اخلاقی در وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، با کد IR.SSRI.REC.1397.311 تأیید شده است.

پروتکل فعالیت ورزشی AIT بر روی نوارگردان بر اساس تحقیق جیانگ و همکاران (۲۱) تنظیم شده است. حیوانات در نوارگردان برای ۵ روز ابتدای هفته به مدت ۶۰ دقیقه و برای ۸ هفته تمرین کردند که شامل سه مرحله بود: (۱) ده دقیقه گرم کردن با شدت ۵۰ الی ۵۵ درصد VO2max؛ (۲) هفت تناوب اینتروال (۴ دقیقه با شدت تقریبی ۸۵ الی ۹۰ درصد VO2max و ۳ دقیقه با شدت تقریبی ۶۵ الی ۷۵ درصد VO2max؛ (۳) یک دقیقه سرد کردن با شدت تقریبی ۵۰ الی ۵۵ درصد VO2max است. قابل ذکر است که با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم تخمین VO2max و با توجه به پژوهش اخیر (هویدال و همکاران، ۲۰۰۷) مبنی بر وجود ارتباط قوی بین سرعت حرکت و VO2max (22)، ما به طور غیرمستقیم و با دقت زیاد شدت فعالیت ورزشی حیوانات را بر اساس سرعت حرکت در ابتدای هر ۲ هفته به شرح زیر تخمین زدیم: بعد از ۲۰-۱۰ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، سرعت نوارگردان هر دو دقیقه یک بار به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر/دقیقه) افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. سرعت معادل VO2max سرعتی است که در آن حیوانات با افزایش سرعت دیگر قادر به ادامه دادن پروتکل تمرینی نباشند (۲۲).

بلافاصله پس از آخرین جلسه فعالیت ورزشی AIT، حیوانات دوز تجمعی هیدروکلوراید DOX (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی) دریافت کردند. ۷۲ ساعت بعد از تزریق DOX، حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلزین (۱۰ mg/kg) بیهوش و سپس کشتار شدند و قلب به سرعت برداشته شد. بلافاصله بعد از برداشتن قلب، تمام نمونه‌های بافتی بطن چپ به محلول مهارکننده RNase منتقل شدند (ساخت شرکت Qiagen) و تا زمان استخراج RNA در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد ذخیره شدند (۲۳). گروه‌های بدون درمان DOX نیز مقدار مشابهی از سالیین دریافت کردند.

برای ارزیابی میزان بیان PGC-1 α توسط تکنیک Real-Time PCR، RNA کل از نمونه‌های بافتی بطن چپ با دقت با استفاده از

جدول ۱- خط زمانی اعمال متغیرها در هر یک از گروه‌ها تا مرحله بافت‌برداری.

Control	یک هفته نگهداری در قفس \leftarrow یک هفته آشنایی با فعالیت ورزشی \leftarrow تزریق سالیین \leftarrow ۷۲ ساعت بعد بافت‌برداری
DOX	یک هفته نگهداری در قفس \leftarrow یک هفته آشنایی با فعالیت ورزشی \leftarrow تزریق DOX \leftarrow ۷۲ ساعت بعد بافت‌برداری
AIT	یک هفته نگهداری در قفس \leftarrow یک هفته آشنایی با فعالیت ورزشی \leftarrow ۸ هفته AIT \leftarrow تزریق سالیین \leftarrow پس از ۷۲ ساعت بافت‌برداری
AIT+DOX	یک هفته نگهداری در قفس \leftarrow یک هفته آشنایی با فعالیت ورزشی \leftarrow ۸ هفته AIT \leftarrow تزریق DOX \leftarrow پس از ۷۲ ساعت بافت‌برداری

جدول ۲- توالی پرایمرها در آزمون Real-Time PCR

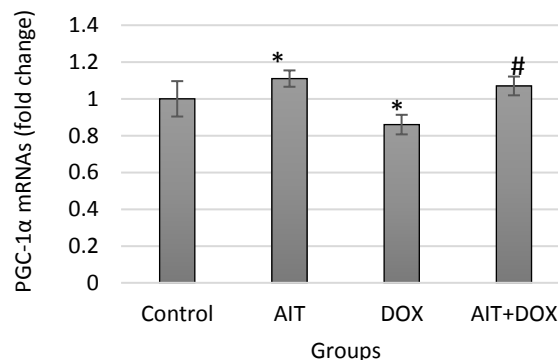
Genes	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	Size (bp)
PGC-1 α	CGGTTGAGCTCGAAGGGATTT	AGCAAGGCTACTACCATCCAC	78
GAPDH	CAAGATCATCAGCAATGCCTCC	GCCATCACGCCACAGTTTCC	123

جدول ۳- درصد نسبت وزن قلب رت‌ها در گروه‌ها

گروه‌ها	Control	AIT	DOX	AIT+DOX
وزن قلب (% از وزن بدن)	0/۳۳ ± 0/۰۲	0/۳۴ ± 0/۰۱۵	0/۳۰ ± 0/۰۳	0/۳۲ ± 0/۰۳۰

دهند (۲۵). از سویی دیگر، شواهد حاکی از آن است که القای بیش از حد بیان PGC-1 α در سلول‌های قلبی تحت کشت باعث ایجاد بیوژنز میتوکندری و فسفوریلاسیون اکسیداتیو می‌شود که با تولید فراوان ATP مرتبط است (۱۲). گزارش شده است که نقص متابولیسم انرژی زیستی در نارسایی قلبی که با کاهش ظرفیت اکسیداتیو عضله قلبی همراه است با تنظیم منفی PGC-1 α و آشبار رونویسی پایین دست آن در ارتباط است (۲۶). مشابه با نتایج این تحقیق، در مطالعه یانگ و همکاران (۲۰۱۵) مشخص شد که تزریق حاد DOX منجر به کاهش بیان PGC-1 α و PPAR α می‌شود که کاهش بیان این دو ژن با متابولیسم انرژی غیرطبیعی (کاهش میزان فسفات‌های پرانرژی و فعالیت انتقالی ANT (Adenine nucleotide translocator) میتوکندری) در رت‌ها مرتبط است (۹). قابل ذکر است که کار تحقیقی قبلی آنها نشان داد که PGC-1 α و فاکتور پایین دست آن PPAR α در متابولیسم انرژی کاردیومیوپاتی اتساعی ناشی از القای DOX به موش‌ها مشارکت دارند (۲۷). همچنین ایکدا و همکاران (۲۰۰۹) بیان داشتند که القای مزمن DOX به موش‌ها نر منجر به کاهش بیان Tfam، فاکتور پایین دست PGC-1 α و ضروری برای رونوشت mtDNA در روند بیوژنز میتوکندری می‌شود (۲۸). سولیمان و همکاران (۲۰۰۷) نیز تأثیر القای مزمن DOX (۱۵ میلیگرم/کیلوگرم وزن) بر بیوژنز میتوکندری در سلول‌های قلبی موش‌ها را مورد بررسی قرار داده‌اند (۱). آنها نشان دادند متعاقب درمان با DOX میزان پروتئین‌های PGC-1 α ، NRF-1 و پروتئین‌های فاکتور ترجمه میتوکندری (Tfam و mTFB) به طور بارزی کاهش می‌یابد. قابل ذکر است که در تحقیق آنها القای DOX منجر به کاهش ۵۰ درصدی محتوای mtDNA شد. به طور کلی، نتایج آنها بیانگر این بود که القای DOX به طور شدیدی منجر به کاهش بیوژنز میتوکندری به واسطه PGC-1 α در سلول‌های قلبی می‌شود (۱). به طور کلی این یافته‌ها نشان می‌دهد می‌توان از طریق بهبود عملکرد بیوژنز میتوکندری و متعاقباً متابولیسم انرژی زیستی میانجی شده توسط PGC-1 α از قلب در برابر سمیت قلبی ناشی از القای DOX محافظت کرد. ولی متناقض با نتایج تحقیق حاضر، در بررسی اثرات اختلال قلبی ناشی از القای DOX با دو روش مزمن (۱۰ میلیگرم/کیلوگرم وزن بدن) و حاد (۴ میلیگرم/کیلوگرم وزن بدن، یک بار در هفته به مدت ۵ هفته) بر بیوژنز و انرژی زیستی میتوکندری توسط مارچل و همکاران (۲۰۱۱) نشان داده شده است که در هر دو مدل حاد و مزمن، القای DOX منجر به کاهش عملکرد بطن چپ (کسر کوتاهی بطن چپ) به همراه افزایش تکه‌تکه شدن

همانگونه در شکل زیر نشان داده شده است، القای DOX به رت‌ها منجر به کاهش معنی‌دار میزان بیان PGC-1 α در گروه DOX در مقایسه با گروه کنترل (Control) شد ($P < 0/05$). همچنین فعالیت ورزشی AIT به تنهایی منجر به افزایش معنی‌دار میزان بیان PGC-1 α در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل شده است ($P < 0/05$). قابل توجه اینکه، میزان بیان PGC-1 α در گروه AIT+DOX به طور معنی‌داری بیشتر از گروه DOX بود ($P < 0/05$). بنابراین انجام فعالیت ورزشی AIT قبل از تزریق DOX به طور معنی‌داری توانست کاهش میزان بیان PGC-1 α ناشی از القای DOX را مهار کند (شکل ۱).

شکل ۱- میزان بیان PGC-1 α در قلب رت‌ها در گروه‌های مختلف ($\alpha > 0/05$).

* نسبت به گروه Control. # نسبت به گروه DOX.

بحث

در این مطالعه ما دریافتیم که القای DOX منجر به کاهش میزان بیان PGC-1 α در سلول‌های قلبی رت‌ها بعد از ۷۲ ساعت می‌شود. با وجود این، در این تحقیق نشان داده شد که انجام دو ماه فعالیت ورزشی AIT قبل از تزریق DOX می‌تواند از کاهش میزان بیان PGC-1 α ناشی از القای DOX بکاهد. و نیز قابل ذکر است که فعالیت ورزشی AIT به تنهایی میزان بیان PGC-1 α را در بطن چپ حیوانات افزایش داد.

بیان شده است که القای حاد DOX منجر به کاهش محتوای ATP به عنوان مسئول اصلی از دست رفتن تجمعی و غیر قابل برگشت عملکرد میتوکندری قلبی در رت‌ها می‌شود (۵). همچنین، تمام آنزیم‌های کلیدی در بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب توسط PGC-1 α القاء و فعال می‌شوند (۷). موش‌ها با کمبود PGC-1 α علائم اولیه نارسایی قلب ناشی از ناتوانی قلب برای پاسخگویی به نیازهای انرژی را توسعه می

تمرینات استقامتی رایج توسط بیماران با نارسایی قلبی بهتر مورد تحمل واقع می‌گیرد و گزینه مناسبی برای بیماران قلبی-عروقی می‌باشد (۳۶). (۳۷). مقالات محدودی به بررسی نقش محافظتی فعالیت ورزشی AIT در برابر سمیت قلبی ناشی از DOX و مکانیسم‌های آن پرداخته است. جارت و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده‌اند که AIT قبل از القای DOX می‌تواند از طریق افزایش مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در بافت قلبی از عوارض جانبی قلبی ناشی از DOX بکاهد (۲۰). نتایج این تحقیق نیز نشان داد که ۸ هفته فعالیت ورزشی AIT قبل از القای DOX می‌تواند از طریق مهار کاهش بیان PGC-1 α ناشی از القای DOX از سلول‌های قلب محافظت می‌کند و از این طریق بیوزن میتوکندری و احتمالاً متابولیسم انرژی زیستی را بهبود بخشد.

قابل ذکر است که Ca²⁺/calmodulin-dependent protein (CaMK kinase) و AMPK از مسیرهای سیگنالی مهم بالادست فعال کننده PGC-1 α هستند (۳۸). گزارش شده است که فعالیت ورزشی AIT (با شدت بالا) از طریق مسیر سیگنالی AMPK و فعالیت ورزشی استقامتی رایج (با شدت متوسط ولی با حجم بالا) از طریق مسیر CaMK تأثیرات خود را بر PGC-1 α می‌گذارند (۳۹). همچنین به طور مشابهی بیان شده است که فعالیت ورزشی AIT نسبت به فعالیت ورزشی استقامتی رایج باعث فراخوانی بیشتر سیگنال متابولیک AMPK می‌شود که با بیان بیشتر PGC-1 α ، بعنوان تنظیم‌کننده اصلی بیوزن میتوکندری، همراه است (۴۰). بنابراین، احتمالاً فعالیت ورزشی AIT می‌تواند گزینه بهتری در کاهش اختلال متابولیسم انرژی ناشی از DOX نسبت به فعالیت ورزشی استقامتی رایج باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که القای DOX (۲۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی) به رت‌ها منجر به کاهش بیان PGC-1 α در سلول‌های بطن چپ قلب بعد از ۷۲ ساعت می‌شود. با وجود این، فعالیت ورزشی AIT قبل از القای DOX منجر به مهار کاهش بیان PGC-1 α در سلول‌های قلبی می‌شود. بنابراین، AIT به عنوان استراتژی غیردارویی مناسب می‌تواند بوسیله افزایش بیان PGC-1 α از قلب در برابر سمیت قلبی ناشی از DOX محافظت کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از رساله دکتری در پردیس بین‌المللی ارس دانشگاه تهران می‌باشد. نویسندگان این مقاله به پاس زحمات و لطف کارکنان مرکز پشمینه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز جهت کمک در انجام سنجش‌های این پژوهش نهایت تشکر و قدردانی را ابراز می‌دارند.

References

1. Suliman HB, Carraway MS, Ali AS, Reynolds CM, Welty-Wolf KE, Piantadosi CA. The CO/HO system reverses inhibition of mitochondrial biogenesis and prevents murine doxorubicin

میتوکندری و محتوای PGC-1 α در موش‌های تحت درمان با DOX می‌شود (۲۹). اخیراً نیز در توافق با تحقیق قبلی، اوهلیگ و همکاران (۲۰۱۸) نشان داده‌اند که DOX منجر به افزایش بیان PGC-1 α در سلول‌های قلبی موش‌ها می‌شود (۳۰).

در طی دهه اخیر، فعالیت ورزشی استقامتی به عنوان استراتژی پیشگیرانه در کاهش سمیت قلبی ناشی از القای DOX مورد توجه فراوانی بوده است (۳۱، ۳۲) و معلوم شده است که فعالیت ورزشی هوازی می‌تواند تأثیر محافظتی بر روی عملکرد قلب داشته باشد و حتی ممکن است یک درمان کمکی مؤثر به‌همراه DOX باشد (۱۴). فعالیت ورزشی رایج هوازی آسیب‌های قلبی القاء شده توسط DOX را از طریق مکانیسم‌های مختلف از جمله کاهش تولید گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر، کاهش فعال‌سازی کینازهای P38، اصلاح متابولیسم انرژی قلبی (افزایش AMPK) (۳۳) و بهبود بیوزن میتوکندری (افزایش بیان PGC-1 α) تعدیل می‌کند (۱۳). مارکوس و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان داده‌اند که ۱۲ هفته فعالیت ورزشی استقامتی قبل از القای سمیت قلبی ناشی از DOX منجر به بهبود عملکرد بیوزن میتوکندری، از طریق افزایش محتوای پروتئین‌های بیوزن (Tfam و PGC-1 α) می‌شود که تا حدودی می‌تواند از آسیب فشار اکسایشی میتوکندری ناشی از DOX ممانعت کند (۱۵). به طور مشابهی، نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد فعالیت ورزشی AIT می‌تواند از کاهش بیان PGC-1 α ناشی از DOX جلوگیری کند. همچنین در توافق با نتایج این تحقیق، گزارش شده است که فعالیت ورزشی استقامتی به تنهایی منجر به افزایش بیوزن در سلول‌های قلبی می‌شود (۱۵ و ۳۴).

از سویی دیگر، در سال‌های اخیر تأثیر درمانی فعالیت ورزشی AIT بر سیستم قلبی-عروقی، دانشمندان را وادار به در نظر گرفتن کاربرد آن در زمینه بیماری‌های قلبی-عروقی کرده است (۱۶، ۳۵). برای مثال اخیراً جیانگ و همکاران (۲۰۱۴) آشکار کردند که فعالیت ورزشی AIT پس از ایجاد انفارکتوس قلبی در رت‌ها می‌تواند به واسطه مهار شکافت، غیر فعال کردن مسیر سیگنالی ERK1/2-JNK-P53 و افزایش بیان PGC-1 α عملکرد قلبی را بهبود بخشد (۲۷). همچنین وانگ و همکاران (۲۰۱۸) نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی AIT به تنهایی می‌تواند موجب تنظیم بالادست مسیر مهم حفظ ثبات انرژی سلول‌های قلبی-AMPK (PGC-1 α -PPAR α) شود و از این طریق می‌تواند موجب بهبود تولید انرژی در بیماران با نارسایی قلبی مزمن شود (۱۷). مشابه با تحقیق قبلی، اثبات شده است که فعالیت ورزشی AIT پس از ایجاد انفارکتوس قلبی در رت‌ها می‌تواند به واسطه افزایش بیان PGC-1 α عملکرد قلبی را بهبود بخشد (۲۱). قابل ذکر است که، سازگاری قلبی-عروقی مرتبط با AIT در برخی موارد نسبت به کسانی که از تمرینات استقامتی رایج استفاده می‌کنند بیشتر است (۱۸). و به نظر می‌رسد AIT نسبت به

18. Zuhl M, Kravitz L. Hiit vs. continuous endurance training: battle of the aerobic titans. *IDEA Fitness Journal* 2012;9:34-40.
19. Wisløff U, Ellingsen Ø, Kemi OJ. High-intensity interval training to maximize cardiac benefits of exercise training? *Exercise and sport sciences reviews* 2009;37(3):139-46. doi:10.1097/JES.0b013e3181aa65fc
20. Jarrett CL, D'Lugos AC, Mahmood TN, Gonzales RJ, Hale TM, Carroll CC, et al. Effect of high intensity exercise preconditioning and training on antioxidant enzymes in cardiomyocytes during doxorubicin treatment. *The FASEB Journal* 2016;30(1):1b601-lb.
21. Jiang HK, Wang YH, Sun L, He X, Zhao M, Feng ZH, et al. Aerobic interval training attenuates mitochondrial dysfunction in rats post-myocardial infarction: roles of mitochondrial network dynamics. *International journal of molecular sciences* 2014;15(4):5304-22. doi:10.3390/ijms15045304
22. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation* 2007;14(6):753-60. doi:10.1097/HJR.0b013e3281eacef1
23. Asadi M, Shanehbandi D, Mohammadpour H, Hashemzadeh S, Sepehri B. Expression level of mir-34a in tumor tissue from patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Gastrointestinal Cancer* 2018;1-4. doi:10.1007/s12029-018-0060-0
24. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research* 2001;29(9):e45. doi:10.1093/nar/29.9.e45
25. Mann N, Rosenzweig A. Basic science for clinicians: can exercise teach us how to treat heart disease? *Circulation* 2012;126(22):2625-35. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.060376
26. Garnier A, Fortin D, Delomenie C, Momken I, Veksler V, Ventura-Clapier R. Depressed mitochondrial transcription factors and oxidative capacity in rat failing cardiac and skeletal muscles. *The Journal of physiology* 2003;551(2):491-501. doi:10.1113/jphysiol.2003.045104
27. Yang Y, Zhang H, Li X, Yang T, Jiang Q. Effects of PPAR α /PGC-1 α on the myocardial energy metabolism during heart failure in the doxorubicin induced dilated cardiomyopathy in mice. *Int J Clin Exp Med* 2014;7(9):2435-42.
28. Ikeda Y, Aihara Ki, Akaike M, Sato T, Ishikawa K, Ise T, et al. Androgen receptor counteracts Doxorubicin-induced cardiotoxicity in male mice. *Molecular Endocrinology* 2010;24(7):1338-48. doi:10.1210/me.2009-0402
29. Marechal X, Montaigne D, Marciniak C, Marchetti P, Hassoun SM, Beauvillain JC, et al. Doxorubicin-induced cardiac dysfunction is attenuated by ciclosporin treatment in mice through improvements in mitochondrial bioenergetics. *Clinical science* 2011;121(9):405-13. doi:10.1042/CS20110069
30. Ohlig J, Henninger C, Zander S, Merx M, Kelm M, Fritz G. Rac1-mediated cardiac damage causes diastolic dysfunction in a mouse model of subacute doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Archives of Toxicology* 2018;92(1):441-53. doi:10.1007/s00204-017-2017-7
31. Dolinsky VW, Rogan KJ, Sung MM, Zordoky BN, Haykowsky MJ, Young ME, et al. Both aerobic exercise and resveratrol supplementation attenuate doxorubicin-induced cardiac injury in mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2013;305(2):E243-53. doi:10.1152/ajpendo.00044.2013
32. Smuder AJ, Kavazis AN, Min K, Powers SK. Doxorubicin-induced markers of myocardial autophagic signaling in sedentary and exercise trained animals. *J Appl Physiol* 2013;115(2):176-85. doi:10.1152/jappphysiol.00924.2012
- cardiomyopathy. *The Journal of clinical investigation* 2007;117(12):3730-41. doi:10.1172/JCI32967
2. Whiteside H, Nagabandi A, Jyothidasan A, Brown K, Thornton J. Acute anthracycline induced cardiotoxicity: A rare and reversible cause of acute systolic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* 2018;71(11):A2356. doi:10.1016/S0735-1097(18)32897-3
3. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer* 2003;97(11):2869-79. doi:10.1002/cncr.11407
4. Wallace KB. Doxorubicin- induced cardiac mitochondrionopathy. *Pharmacol Toxicol* 2003;93(3):105-15. doi:10.1034/j.1600-0773.2003.930301.x
5. Zhou S, Starkov A, Froberg MK, Leino RL, Wallace KB. Cumulative and irreversible cardiac mitochondrial dysfunction induced by doxorubicin. *Cancer Res* 2001;61(2):771-7.
6. Liang H, Ward WF. PGC-1 α : a key regulator of energy metabolism. *Adv Physiol Educ* 2006;30(4):145-51. doi:10.1152/advan.00052.2006
7. Rowe GC, Jiang A, Arany Z. PGC-1 coactivators in cardiac development and disease. *Circ Res* 2010;107(7):825-38. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.223818
8. Ventura-Clapier R. Exercise training, energy metabolism, and heart failure. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2009;34(3):336-9. doi:10.1139/H09-013
9. Yang Y, Zhang H, Li X, Yang T, Jiang Q. Effects of PPAR α /PGC-1 α on the energy metabolism remodeling and apoptosis in the doxorubicin induced mice cardiomyocytes in vitro. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(10):12216-24.
10. Chaube B, Malvi P, Singh SV, Mohammad N, Viollet B, Bhat MK. AMPK maintains energy homeostasis and survival in cancer cells via regulating p38/PGC-1 α -mediated mitochondrial biogenesis. *Cell death discovery* 2015;1:15063. doi:10.1038/cddiscovery.2015.63
11. Leone TC, Lehman JJ, Finck BN, Schaeffer PJ, Wende AR, Boudina S, et al. PGC-1 α deficiency causes multi-system energy metabolic derangements: muscle dysfunction, abnormal weight control and hepatic steatosis. *PLoS biology* 2005;3:e101. doi:10.1371/journal.pbio.0030101
12. Lehman JJ, Barger PM, Kovacs A, Saffitz JE, Medeiros DM, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis. *The Journal of clinical investigation* 2000;106:847-56. doi:10.1172/JCI10268
13. Kavazis AN, Smuder AJ, Powers SK. Effects of short-term endurance exercise training on acute doxorubicin-induced FoxO transcription in cardiac and skeletal muscle. *Journal of applied physiology* 2014;117(3):223-30. doi:10.1152/jappphysiol.00210.2014
14. Maia TN, Araujo GBRd, Teixeira JAC, Junior A, de Drummond E, Dias KP. Cardiotoxicidade Decorrente do Tratamento com Doxorubicina e Exercício Físico: Revisão Sistemática. *International Journal of Cardiovascular Sciences* 2017;30(1):70-80. doi:10.5935/2359-4802.20170004
15. Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Mariani D, Rizo-Roca D, Padrao 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. doi:10.1016/j.mito.2014.10.008
16. Guiraud T, Nigam A, Gremeaux V, Meyer P, Juneau M, Bosquet L. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. *Sports medicine* 2012;42(7):587-605. doi:10.2165/11631910-000000000-00000
17. Wang L, Gao K, Wang D. Exercise training has restorative potential on myocardial energy metabolism in rats with chronic heart failure. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2018;21(8):818-23. doi:10.22038/IJBMS.2018.29294.7076

37. Moholdt TT, Amundsen BH, Rustad LA, Wahba A, Løvø KT, Gullikstad LR, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise after coronary artery bypass surgery: a randomized study of cardiovascular effects and quality of life. *American heart journal* 2009;158:1031-7. doi:10.1016/j.ahj.2009.10.003
38. Laursen PB. Training for intense exercise performance: high-intensity or high-volume training? *Scand J Med Sci Sports* 2010;20:1-10. doi:10.1111/j.1600-0838.2010.01184.x
39. Zuhl M, Kravitz L. HIIT vs. Continuous endurance training: Battle of the aerobic titans. *IDEA Fitness Journal* 2012;9:35-40.
40. MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *The Journal of physiology* 2017;595:2915-30. doi:10.1113/JP273196
33. Chen JJ, Wu PT, Middlekauff HR, Nguyen KL. Aerobic exercise in anthracycline-induced cardiotoxicity: a systematic review of current evidence and future directions. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2017;312(2):H213-22. doi:10.1152/ajpheart.00646.2016
34. Riehle C, Wende AR, Zhu Y, Oliveira KJ, Pereira RO, Jaishy BP, et al. Insulin receptor substrates (irs) are essential for the bioenergetic and hypertrophic response of the heart to exercise training. *Molecular and cellular biology* 2014;00426-14. doi:10.1128/MCB.00426-14
35. Rahimi M, Shekarforoush S, Asgari AR, Khoshbaten A, Rajabi H, Bazgir B, et al. The effect of high intensity interval training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in wistar rats. *EXCLI journal* 2015;14:237-46. doi:10.17179/excli2014-587
36. Karlsen T, Hoff J, Støylen A, Skovholdt MC, Aarhus KG, Helgerud J. Aerobic interval training improves VO_{2peak} in coronary artery disease patients; no additional effect from hyperoxia. *Scandinavian Cardiovascular Journal* 2008;42(5):303-9. doi:10.1080/14017430802032723



Protective Effect of Aerobic High-Intensity Interval Training Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats

Khadijeh Ebrahimi^{1*}, Siroos Choobineh^{2*}, Reza Badalzadeh³, Rahman Soori²

1- Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Aras International Campus, Jolfa, Iran.

2- Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

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

Received: 4 October 2018, Accepted: 23 November 2018

Abstract:

Introduction: Clinical use of Doxorubicin (DOX), a widely useful drug for the treatment of various cancers, is limited by the cardiotoxicity. Despite the growing attention to the protective role of exercise activity, especially moderate endurance exercises against the DOX-induced cardiotoxicity, few studies have focused on aerobic high-intensity interval training (AIT) and its mechanisms. Therefore, the purpose of this study was to investigate the protective effect of AIT against the DOX-induced changes in the PGC-1 α mRNA levels in the cardiomyocytes of rats.

Methods: 24 male Wistar rats were randomly assigned into four groups (n=6/groups): 1) Control; 2) DOX (20 mg/kg body weight); 3) AIT (7 sets of 4 min intervals at 80%–90% VO₂max interspersed with 3 min periods of 65%–75% VO₂max, for 8 weeks before DOX-injection); and 4) AIT + DOX. The mRNA levels also were determined using RT-PCR. For statistical analysis of data, One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used ($\alpha < 0.05$).

Results: DOX-treatment significantly decreased the expression of PGC-1 α in the DOX group compared to the Control group ($P < 0.05$). Also, the expression of PGC-1 α significantly increased in the AIT group compared to the Control group ($P < 0.05$). AIT before DOX-induction also significantly increased the expression of PGC-1 α in the AIT+DOX group compared to the DOX group ($P < 0.05$). AIT could inhibit the DOX-induced changes in the PGC-1 α mRNA levels in the cardiomyocytes of rats.

Conclusion: AIT could be a good non-prescriptive strategy for preventing of DOX-induced cardiotoxicity.

Keywords: Doxorubicin, Interval training, Cardiotoxicity, PGC-1 α

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: K. Ebrahimi, Email: ebrahimi_kh@ut.ac.ir

**Corresponding author: S.Choobineh, Email: choobineh@ut.ac.ir

Citation: Ebrahimi K, Choobineh S, Badalzadeh R, Soori R. Protective Effect of Aerobic High-Intensity Interval Training Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2018;13(3):42-49.