

Original Article

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

Amir Hossein Javid<sup>1</sup>, Valiollah Dabidi Roshan<sup>2\*</sup>

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

Pathobiology Research, Vol. 19 (2016-2017), No.4, Pages: 1-12

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

امیرحسین جاوید<sup>۱</sup>، ولی الله دیدی روشن<sup>۲\*</sup>

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 آنتی‌اکسیدانت‌های گیاهی نظیر کورکومین را در کاهش آثار سمی دوکسوروبیسین به کار برده‌اند. 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، به‌طور 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 به‌وسیله تزریق درون صفاقی محلول دی‌گلاکتوز (۱۰۰ میلی‌گرم/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 ۱۵-۲۰ متر در دقیقه، روی نوارگردان دویدند. در ۱۵ روز انتهایی برنامه تمرین، دوز تجمعی ۱۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دوکسوروبیسین (هر روز ۱ میلی‌لیتر/کیلوگرم) تزریق و مکمل نانوکورکومین (۱ میلی‌گرم روزانه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به گروه‌های مربوطه خوراندند. سنجش شاخص‌های تحقیق پس از بافت‌برداری و پودر کردن بافت کبد انجام شد.

**نتایج:** دوکسوروبیسین موجب کاهش معنی‌دار گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبد و افزایش جزئی مالون‌دی‌آلدیید شد. از طرفی انجام تمرین تداومی به همراه درمان دوکسوروبیسین، از کاهش گلوتاتیون پراکسیداز و افزایش مالون‌دی‌آلدیید بافت کبد ناشی از تزریق دوکسوروبیسین پیشگیری کرد. همچنین شش هفته تمرین تداومی به همراه مکمل نانوکورکومین موجب کاهش مالون‌دی‌آلدیید و افزایش معنی‌دار گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبد نسبت به گروه دوکسوروبیسین شد. **نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج، ترکیب مکمل نانوکورکومین و تمرین تداومی در موش‌های سالمند درمان شده با دوکسوروبیسین، منجر به اثر پیشگیرانه و تنظیم افزایشی دفاع آنتی‌اکسیدانتی می‌شود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده 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 آسیب‌شناسی زیستی، دوره ۱۹، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۵، صفحات: ۱-۱۲

## اثر تمرین ورزشی و نانوکورکومین بر سمیت کبدی

دسترسی زیست محیطی کورکومین، فرمول های 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 دوکسوروبیسیسین در موش های مدل سالمندی استفاده شده است.

گلوکوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase) آنزیمی وابسته به سلنیوم (Selenium) بوده که در غشای چربی و هموگلوبین و اریتروسیت ها (Erythrocytes) وجود دارد. گلوکوتاتیون پراکسیداز، پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می کند و برای این واکنش از گلوکوتاتیون به عنوان دهنده الکترون استفاده می کند. این آنزیم نقش مهمی در مهار پراکسیداسیون لیپید و جلوگیری از آسیب به DNA و RNA ایفا می کند [۱۰]. مالون دی آلدیید (Malondialdehyde: MDA) رایج ترین 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 اکسیداتیو را پس از یک برنامه تمرینات استقامتی تعیین کرده است [۱۳، ۱۴]. از آنجایی که بیشتر تحقیقات روی آزمودنی های جوان انجام شده و با توجه به این که افزایش عدم تعادل اکسیدان/آنتی اکسیدانی می تواند با افزایش سن رخ دهد، این عامل می تواند در زمینه تعادل استرس اکسایشی به عنوان یک عامل با اهمیت در نظر گرفته شود [۱۵]. بنابراین با توجه به این که تاکنون مطالعه ای در مورد تأثیر فعالیت ورزشی به همراه مکمل آنتی اکسیدانی نانوکورکومین، در موش های 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 دوکسوروبیسیسین در موش های آزمایشگاهی بزرگ مدل سالمندی بود.

## مقدمه

دوکسوروبیسیسین (Doxorubicin) یکی از مؤثرترین آنتراسایکلین های رایج است که به عنوان داروی ضد توموری در درمان انواع سرطان استفاده می شود. با این وجود استفاده از آن موجب مضرات جانبی از جمله سمیت کبدی می شود. با توجه به این که متابولیزه شدن و دریافت غلظت بالای دوکسوروبیسیسین توسط کبد انجام می شود، این بافت را در برابر آسیب مستعد می کند [۱]. استراتژی های متعددی با هدف پیشگیری از سمیت کبدی ناشی از درمان با دوکسوروبیسیسین 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 دوکسوروبیسیسین معطوف ساخته است [۱-۳]. از سوی دیگر؛ در سال های اخیر در کنار فعالیت های ورزشی، استفاده از آنتی اکسیدان های گیاهی برای درمان های غیر دارویی مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است که از این بین می توان به کورکومین (Curcumin) عامل اصلی زرد رنگ تشکیل دهنده چاشنی زردچوبه اشاره کرد که به گونه ای خالص از گیاه کورکوما لونگا (*Curcuma longa*) استخراج می شود [۴]. بسیاری از محققان به آثار سودمند درمانی آنتی اکسیدانی [۵]، ضد التهابی [۶] و فعالیت های ضد سرطانی کورکومین [۷] اشاره کرده اند. همچنین نشان داده شده است که کورکومین دارای خواص کاهش دهنده در مقابله با رادیکال سوپراکسید (Superoxide radical)، رادیکال هیدروکسیل (Hydroxyl radical) و اکسیژن تکسی 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 داده اند که نانوذرات 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

## مواد و روش‌ها

۴۲ سر موش آزمایشگاهی بزرگ نر نژاد ویستار (Wistar) ۱۲ هفته‌ای با میانگین وزنی ( $260 \pm 10$  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 زیرصفاقی 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 میلی‌گرم 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 تجمع‌ی ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۱۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) دوکسوروبیسین (Pfizer، استرالیا) به صورت زیر صفاقی به گروه‌های دوکسوروبیسین انجام شد. همچنین با توجه به آثار احتمالی تزریق زیر صفاقی 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 صفاقی تزریق شد. همزمان با تزریق دوکسوروبیسین به گروه‌های نانوکورکومین، مکمل خوراکی نانوکورکومین (نانو اکسیر سینا، ایران) به وسیله روش گاواژ به میزان ۱ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (Xylazine) (۳-۵ میلی‌گرم/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 گلوتاتیون پراکسیداز، ابتدا بافت کبد با استفاده از مایع نیتروژن پودر شد و سپس ۱۰۰ میلی‌گرم از پودر ساخته شده با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین حاوی ۸ گرم NaCl، ۲۰ میلی‌مول Tris-HCL (pH=۷.۰)، ۱ درصد NP40، ۱۰

اثر تمرین ورزشی و نانوکوکومین 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 ± انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن انتها ± انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن کبد ± انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن کبد/وزن بدن ± انحراف معیار
S (N=6)	۲۵۸/۸۳ ± ۴۹/۳۵	۳۸۶/۱۶ ± ۴۲/۴۵	۱۵۰/۵۳ ± ۱۷/۷۴	۲۴/۸۷
D (N=6)	۲۷۵ ± ۳۹/۴۹	۳۲۹ ± ۴۵/۷۲	۱۱/۹۸ ± ۳/۰۶	۲۷/۴۶
CTD (N=6)	۲۷۷/۵۰ ± ۱۹/۴۲	۳۳۷ ± ۲۷/۰۳	۱۱/۲۹ ± ۲/۵۵	۲۹/۸۵
CTS (N=6)	۲۷۹/۱۶ ± ۳۱/۰۵	۳۴۰/۶۶ ± ۳۹/۲۵	۱۰/۷۸ ± ۰/۹۶	۳۱/۶۰
CTNaCD (N=6)	۲۷۷/۸۳ ± ۳۱/۸۱	۳۴۴/۶۶ ± ۲۳/۲۹	۱۲/۸۰ ± ۲/۸۳	۲۶/۹۳
NaCD (N=6)	۲۷۲ ± ۵۳/۱۱	۳۳۴/۶۶ ± ۶۹/۸۸	۱۰/۸۹ ± ۲/۰۶	۳۱/۶۵
NaCS (N=6)	۲۷۳/۳۳ ± ۴۷/۱۸	۳۷۳/۱۶ ± ۷۷/۹۸	۱۴/۸۸ ± ۳/۲۳	۲۵/۰۸

S = کنترل سالیین، D = کنترل دوکسوروبیسین، CTD = تمرین تداومی + دوکسوروبیسین، CTS = تمرین تداومی + سالیین، CTNaCD = تمرین تداومی + نانوکوکومین + دوکسوروبیسین، NaCD = نانوکوکومین + دوکسوروبیسین، NaCS = نانوکوکومین + سالیین

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 سالیین 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 نانوکوکومین + دوکسوروبیسین شد؛ اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $P>0/05$ ). همچنین خوراندن مکمل نانوکوکومین 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 smirnov 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 (Least significant difference) LSD 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.

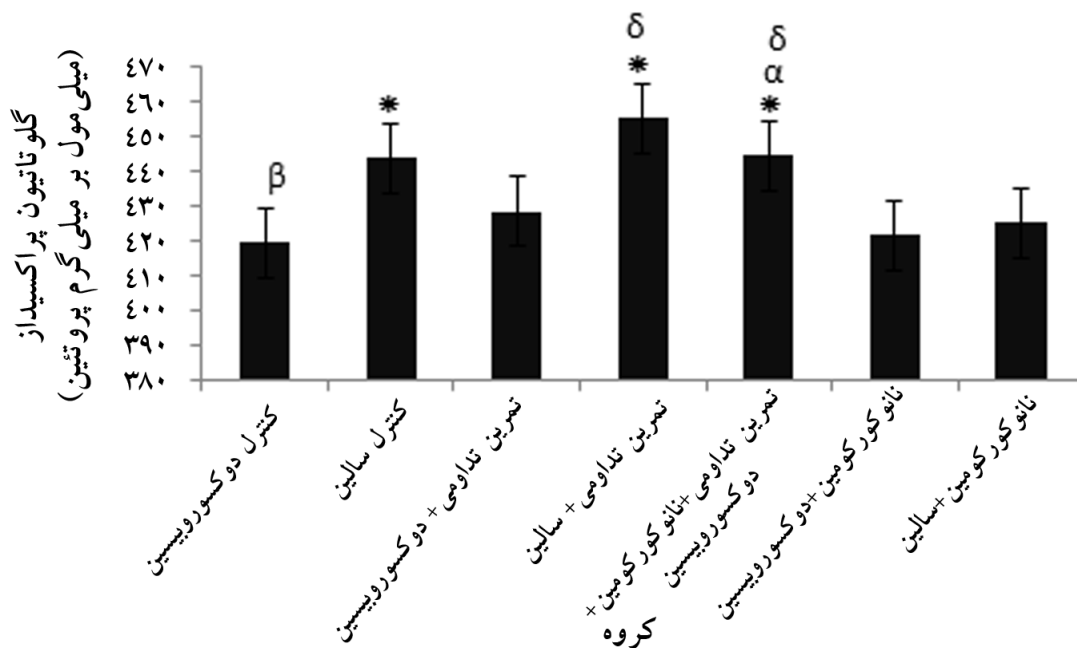
نتایج

ویژگی‌های حیوانات شامل وزن بدن در ابتدا و انتهای

گروه دوکسوروبیسین شد، هر چند به لحاظ آماری معنی دار نبود ( $P > 0/05$ ). از طرف دیگر؛ ۶ هفته تمرین تداومی به همراه مکمل خوراکی نانوکورکومین در موش های درمان شده با دوکسوروبیسین موجب افزایش معنی دار 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 سالیین شد؛ هر چند به لحاظ آماری معنی دار نبود

( $P > 0/05$ ). با توجه به نتایج به دست آمده اجرای ۶ هفته تمرین تداومی به همراه درمان دوکسوروبیسین، موجب کاهش معنی دار میانگین MDA نسبت به گروه نانوکورکومین + دوکسوروبیسین ( $P = 0/017$ ) شد و همچنین کاهش نسبت به گروه کنترل دوکسوروبیسین شد که البته معنی دار نبود ( $P > 0/05$ ). همچنین مصرف مکمل نانوکورکومین به همراه درمان دوکسوروبیسین، تأثیر معنی داری 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 معنی دار نبود.

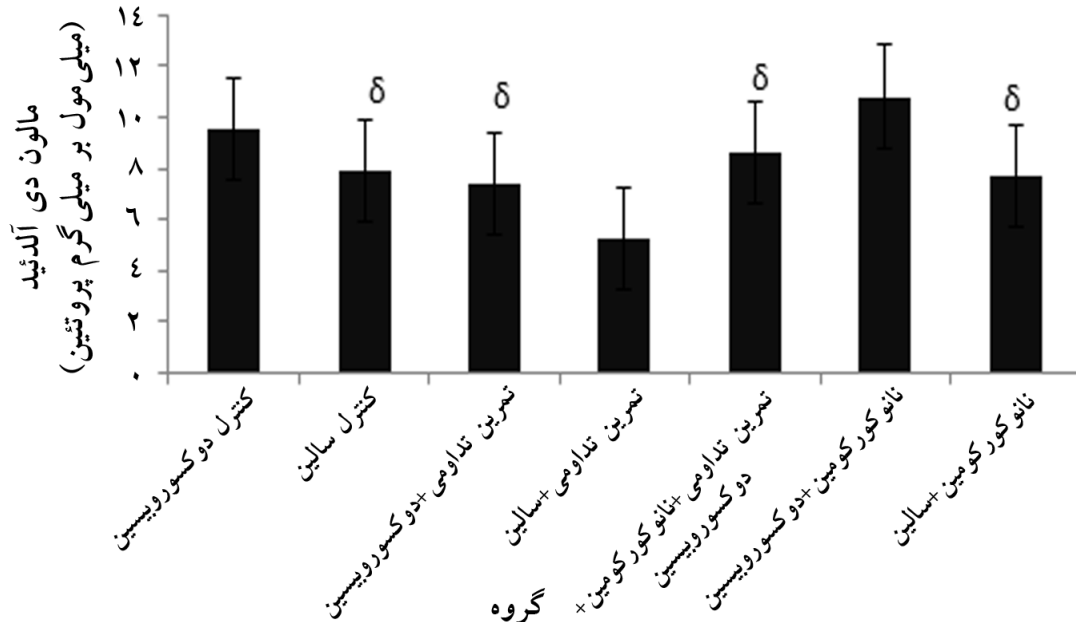
### گلوتاتیون پراکسیداز



شکل ۱ میانگین  $\pm$  انحراف معیار (SD) گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبد گروه های مختلف مورد آزمون؛ \* اختلاف معنی دار با گروه کنترل دوکسوروبیسین،  $\alpha$  اختلاف معنی دار با گروه تمرین تداومی + دوکسوروبیسین،  $\beta$  اختلاف معنی دار با گروه تمرین تداومی + نانوکورکومین + دوکسوروبیسین،  $\delta$  اختلاف معنی دار با گروه نانوکورکومین + دوکسوروبیسین ( $P < 0/05$ )

اثر تمرین ورزشی و نانوکورکومین بر سمیت کبدی

### مالون دی آلدئید



شکل ۲ میانگین  $\pm$  انحراف معیار (SD) MDA بافت کبد گروه‌های مختلف مورد آزمون؛ \* اختلاف معنی دار با گروه کنترل دوکسوروبیسین،  $\alpha$  اختلاف معنی دار با گروه تمرین تداومی + دوکسوروبیسین،  $\beta$  اختلاف معنی دار با گروه تمرین تداومی + نانوکورکومین + دوکسوروبیسین و  $\delta$  اختلاف معنی دار با گروه نانوکورکومین + دوکسوروبیسین ( $P < 0.05$ )

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

### 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

بیوشیمیایی و حفظ تعادل آنتی اکسیدانی -اکسیدانی به اجرا می‌گذارد. احتمالاً کورکومین از طریق افزایش دفع متابولیت‌های سمی و قابلیت سریع و مؤثر در پاک‌کنندگی رادیکال‌های لیپید پراکسیل (Lipid Peroxyl) قبل از این که این رادیکال‌ها به غشای لیپیدی حمله کند، صدمات اکسایشی را کاهش می‌دهد [۲۶]. بر اساس مطالعات انجام شده مقدار خوراکی کورکومین می‌تواند تا ۸۰۰ میلی‌گرم روزانه افزایش داده شود بدون آن که اثر توکسیسیته بر بدن داشته باشد [۲۷]. کورکومین در غلظت‌های پایین دارای اثر ضد فیبرینوژن (Fibrinogenes) و در غلظت‌های بالا باعث ایجاد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (Apoptosis) در سلول‌های ماهواره‌ای یا اقماری (Satellite) کبد موش می‌شود [۲۸]. با این حال در تحقیق حاضر استفاده از مکمل نانوکورکومین به تنهایی تغییر معنی‌داری در سمیت ناشی از داروی دوکسوروبیسین نداشت که نتیجه‌ای دور از انتظار بود. اگرچه انجام پژوهش‌های بیشتر برای تأیید احتمالی این دیدگاه ضروری به نظر می‌رسد.

یافته دیگر مطالعه حاضر نشان داد که تمرین تداومی به همراه مکمل خوراکی نانوکورکومین در موش‌های مدل سالمندی درمان شده با دوکسوروبیسین موجب کاهش MDA و افزایش معنی‌دار گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه دوکسوروبیسین به تنهایی شد که نشان‌دهنده فواید توأم تمرین تداومی و مصرف مکمل نانوکورکومین نسبت به فواید هر کدام به تنهایی در بهبود تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی/اکسیدانی به نفع کاهش استرس اکسایشی است. سمیت کبدی یا قلبی ناشی از داروی دوکسوروبیسین نیز اغلب با تولید رادیکال‌های آزاد رخ می‌دهد 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 برنامه‌ریزی شده انجام شود همراه با مصرف مکمل نانوکورکومین می‌تواند شدت و

افزایش MDA و کاهش معنی‌دار گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به حیوانات دریافت‌کننده سالی‌ن‌ها که تأییدکننده 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 می‌شود. اطلاعات موجود نشان می‌دهد که دوکسوروبیسین از طریق اختلال کارکردهای مهم میتوکندری و کاهش فعالیت آنزیم‌های حیاتی میتوکندری با آن برهم کنش نشان می‌دهد [۲۱].

یافته دیگر این پژوهش نشان داد تمرین تداومی حین درمان دوکسوروبیسین، تا حدودی موجب کاهش استرس اکسایشی ناشی از القا دوکسوروبیسین در موش‌های 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 آنتی‌اکسیدانی/اکسیدانی ناشی سمیت دارو را در بافت کبد معکوس می‌نماید و پیشنهاد کردند که تمرینات منظم هوازی می‌تواند به عنوان رویکرد درمانی برای کاهش سمیت کبدی ناشی از دوکسوروبیسین استفاده شود [۲، ۱۶]. همچنین آسنسائو (Ascensão) و همکارانش (۲۰۰۵)، در مطالعه‌ای 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 معنی‌دار 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 آنزیم‌های



### 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 گلوکوتاتیون 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 خشتی‌سازی 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 گلوکوتاتیون 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 گلوکوتاتیون پراکسیداز می‌شود و می‌تواند تعادل اکسیدانی/آنتی‌اکسیدانی را به نفع سطوح آنتی‌اکسیدان و مهار اکسایش تغییر دهد و می‌تواند 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, Hedayyati 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.

اثر تمرین ورزشی و نانوکوکومین بر سمیت کبدی

- 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*. 1<sup>st</sup> 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.