

اثر پیشگیرانه تمرین هوازی اجباری، داوطلبانه و مکمل نانوکورکومین بر فیبروز آئورت ناشی از القای مزمن آدریامایسین در موش‌های صحرایی سالمند

فاطمه شریفی^۱، ولی الله دبیدی روشن^۲

۱- دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲- نویسنده مسئول: استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران و قطب علمی پایش سلامت ورزشی و پویش قهرمانی، بابلسر، ایران
پست الکترونیکی: v.dabidi@umz.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۲۰

چکیده

سابقه و هدف: با وجود اثربخشی آدریامایسین در درمان انواع مختلف سرطان، عوارض قلبی-عروقی آن بویژه در سالمندان، چالش برانگیز شده است. هدف این مطالعه بررسی اثر پیشگیرانه تمرین هوازی اجباری، داوطلبانه و مکمل نانوکورکومین بر فیبروز آئورت ناشی از القای مزمن آدریامایسین در موش‌های صحرایی سالمند بود.

مواد و روش‌ها: هفتاد سر موش صحرایی بالغ نر نژاد ویستار ۱۲ هفته‌ای به‌طور تصادفی به ۱۰ گروه تجربی و کنترل تقسیم شدند. سالمندسازی به‌وسیله تزریق دی‌گالاکتوز (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) ایجاد شد. گروه‌های تمرین هوازی اجباری پنج جلسه در هفته به‌مدت شش هفته روی نوارگردان (۲۵-۵۴ دقیقه/روز، شیب ۰٪، سرعت ۱۵-۲۰ متر/دقیقه) دویدند. گروه‌های تمرین داوطلبانه شش هفته به‌چرخ‌دوار اختیاری دسترسی داشتند. دو هفته آخر، ۱۵ روز تزریق زیرصفاقی (۱ میلی‌گرم/کیلوگرم/روز) آدریامایسین/سالین و ۱۴ روز القای نانوکورکومین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم/روز) با گاوژ اجرا شد. چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه، موش‌ها قربانی و آئورت صعودی برداشته شد. برای تجزیه و تحلیل بافت‌شناسی، رنگ‌آمیزی تری کروم مالوری انجام شد. ضخامت منطقه کلاژن و الاستین اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری در ضخامت الاستین بافت آئورت بین گروه‌های مختلف وجود نداشت ($p=0/197$). ضخامت کلاژن به‌طور معنی‌داری در اثر تمرین داوطلبانه+آدریامایسین ($p=0/003$)، تمرین اجباری+آدریامایسین ($p<0/001$)، نانوکورکومین+آدریامایسین ($p<0/001$)، تمرین داوطلبانه+نانوکورکومین+آدریامایسین ($p<0/001$) و تمرین اجباری+نانوکورکومین+آدریامایسین ($p<0/001$) کمتر از گروه آدریامایسین بود. همچنین نسبت ضخامت کلاژن/الاستین در اثر تمرین داوطلبانه+آدریامایسین ($p=0/003$)، تمرین اجباری+آدریامایسین ($p<0/001$)، نانوکورکومین+آدریامایسین ($p=0/002$)، تمرین داوطلبانه+نانوکورکومین+آدریامایسین ($p=0/015$) و تمرین اجباری+نانوکورکومین+آدریامایسین ($p<0/001$) کمتر از گروه آدریامایسین بود.

نتیجه‌گیری: تمام رویکردهای به‌کار رفته در پژوهش حاضر ممکن است یک درمان با ارزش برای خنثی کردن افزایش فیبروز آئورت ناشی از آدریامایسین باشند که بخشی از آن بخاطر اثرات مثبت تمرین هوازی و همچنین تأثیر مفید نانوکورکومین بر سیستم قلبی-عروقی است.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، آدریامایسین، نانوکورکومین، ناحیه الاستین و کلاژن، آئورت

• مقدمه

برخی از این اهداف در سلول‌های غیرهدف نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۳)، بنابراین عوارض جانبی سمی آن در بافت‌های سالم مانند تصلب عروقی (۴) و سمیت قلبی استفاده از آن را محدود کرده‌است (۵-۸). اختلال عملکرد عروقی، که توسط شیمی‌درمانی آنتراسایکلین ایجاد می‌شود، مقدمه‌ای برای ایجاد

آدریامایسین (Adriamycin, ADR) یکی از قوی‌ترین داروهای آنتراسایکلین است (۱) که به‌طور گسترده برای درمان انواع تومور و بدخیمی‌های سیستمیک مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). مکانیزم عمل ADR در سلول‌های تومور شامل تعامل با هسته، میتوکندری و غشاهای زیستی است، اگرچه

(۱۸). بنابراین، در این مطالعه دویدن داوطلبانه برای جداسازی اثرات فعالیت بدنی معمول از استرس اضافی مرتبط با ورزش اجباری به کار گرفته شد.

استفاده از ترکیبات گیاهی و طبیعی یا مشتقات آنها برای کاهش اثرات نامطلوب ناشی از عوامل رادیوتراپی/شیمی درمانی و/یا افزایش حساسیت سلول‌های تومور به این عوامل در چند دهه گذشته توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۵). کورکومین جزء فعال اصلی زردچوبه به‌عنوان محافظت‌کننده قلبی-عروقی شناخته شده است، خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی کورکومین می‌تواند به‌طور بالقوه عملکرد اندوتلیال را بهبود بخشد (۱۹). با وجود این، استفاده بالینی از آن به‌واسطه جذب ضعیف، متابولیسم سریع، نیمه‌عمر بیولوژیکی کوتاه و فراهمی زیستی خوراکی ناچیز (تنها ۱٪ در موش‌ها، در انسان ضعیف‌تر) محدود شده‌است، به‌طوری‌که سطح سرمی غیرقابل کشف و یا بسیار کم از کورکومین (0.006 ± 0.005 میکروگرم/میلی لیتر/ساعت) در انسان پس از یک دوز خوراکی ۲ گرم/کیلوگرم مشاهده شد (۲۰). بنابراین، دوزهای بسیار بالا ($< 3/6$ گرم/روز در انسان) برای تولید هر اثر دارویی مورد نیاز است. چندین روش برای افزایش غلظت آن از جمله مصرف دوزهای زیاد کورکومین تا ۸ گرم در روز، مصرف مکرر به‌جای تک‌دوز، مصرف همراه با افزایش دهنده جذب خوراکی و فرمولاسیون نوین دارو مانند تهیه لیپوزوم و نانوذره استفاده گردیده است (۲۰). استفاده از فرمول نانوکورکومین می‌تواند بر فراهمی زیستی ضعیف کورکومین غلبه کند و خواص فیزیوکوشیمیایی آن را با توجه به اثربخشی آن افزایش دهد (۲۱). مصرف همزمان نانوکورکومین سمیت قلبی ناشی از آدریامایسین را از طریق مکانیسم‌های مختلف از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدآپوپتوز کاهش می‌دهد. همچنین اثر محافظت قلبی فرمولاسیون نانوکورکومین در برابر سمیت قلبی ناشی از ADR بیشتر از کورکومین آزاد بود (۲۱). این در حالی است که در مورد اثر بخشی نانوکورکومین به‌ویژه همراه تمرین هوازی بر فیبروز آئورت ناشی از ADR تاکنون پژوهشی صورت نگرفته است.

فرض بر آن است که اثربخشی رویکردهای غیردارویی ترکیبی، به‌ویژه تمرینات داوطلبانه به‌همراه مکمل نانوکورکومین به‌دلیل هم‌افزایی نقش ضداکسایشی در مهار تغییرات ناشی از القای ADR در ایجاد فیبروز آئورت بهتر از اثرات مجزای هر یک از این رویکردها باشد. لذا با توجه به اینکه پیشگیری هرچه بیشتر از سمیت عروقی ناشی از درمان امیدبخش ADR در بیماران سرطانی بسیار حائز اهمیت است، در پژوهش حاضر به ارزیابی اثرات پیشگیرانه تمرینات هوازی اجباری، داوطلبانه،

و توسعه‌ی بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشد (۹). در بیماران تحت درمان با آنتراسایکلین‌ها، سختی سرخرگ افزایش می‌یابد (۱۰). علی‌رغم این واقعیت که بافت عروقی اولین بافتی است که پس از تزریق تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۱۲، ۱۱، ۴)، تحقیقات بر روی عروق به‌ویژه آئورت به‌وسیله ADR کمتر مورد توجه قرار گرفته است.

عملکرد مناسب عروق به مشارکت سلول‌ها در دیواره آن، از جمله فیبروبلاست‌ها، سلول‌های عضله صاف و سلول‌های اندوتلیال بستگی دارد. آنها مولکول‌های سیگنالی و پروتئین‌های داربست مانند کلاژن و الاستین را تولید می‌کنند (۱۳). لایه‌های دیواره آئورت حاوی فیبرهای کلاژن، سلول‌های عضله صاف و الیاف الاستیک است. الاستین، بین سلول‌های عضلانی صاف قرار دارد و الاستیسیته را فراهم می‌کند. کلاژن نیز سلول‌های عضلانی صاف و لایه الاستیک را احاطه کرده است؛ در سفت شدن دیواره عمل می‌کند (۱۴). افزایش نسبت کلاژن/الاستین، سخت شدن دیواره سرخرگی را مشخص می‌کند که منجر به ازدست دادن انعطاف‌پذیری دیواره عروق، ترویج فیبروز قلب و نارسایی قلب در سالمندان می‌شود. از طرفی پیری همراه با ازدست دادن سلول‌های عضلانی صاف، افزایش کلاژن و کاهش الاستین در دیواره آئورت است (۱۵). از این‌رو با توجه به اثرات پیری بر ساختار عروق، در مطالعه حاضر برای اولین بار مدل سالمندی مورد بررسی قرار گرفت.

پیامدهای قرار گرفتن در معرض ADR به‌عنوان یک نگرانی عمده مطرح می‌شود زیرا جمعیت بازماندگان سرطان همچنان در حال افزایش است. بنابراین، جستجو برای درمان‌های محافظت‌کننده از سمیت قلبی-عروقی بسیار مورد توجه است. تمرین ورزشی یک ابزار قدرتمند برای جلوگیری از علائم و بیماری‌های پیری از جمله بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان است (۱۶). انجام تمرینات ورزشی قبل از تشخیص سرطان با ۲۰ تا ۳۷ درصد کاهش خطر عوارض قلبی عروقی در بیماران مبتلا به سرطان اولیه پستان همراه است (۱۷، ۱). در مطالعه‌ای Gibson و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند اختلال عروقی ناشی از ADR به‌وسیله ورزش پیش‌درمان کاهش می‌یابد (۱۲)؛ با وجود اینکه شواهد نشان می‌دهند فعالیت بدنی منظم در بیماران سرطانی باعث بهبود نتایج آنکولوژیک و قلبی-عروقی می‌شود، نوع برنامه تمرینی بویژه در عروق بررسی نشده است. اکثر مطالعاتی که اثرات محافظت قلبی برنامه‌های تمرینی را بررسی کرده‌اند، از شنا یا دویدن اجباری استفاده کرده‌اند. اگرچه این پروتکل‌ها، کنترل دقیق مدت و شدت تمرین را میسر می‌سازند، حیوانات استرس سیستمیک زیادی را تجربه می‌کنند که ممکن است پیامدهای فیزیولوژیکی گسترده‌ای داشته باشد

حیوانات به‌طور تصادفی به ۱۰ گروه تیمار و کنترل (در هر گروه ۷ سر موش، سالین (S)، آدریامایسین (AD)، تمرین داوطلبانه+سالین (VTS)، تمرین داوطلبانه+آدریامایسین (VTAD)، تمرین اجباری+سالین (FTS)، تمرین اجباری+آدریامایسین (FTAD)، نانوکورکومین+سالین (NCS)، نانوکورکومین+آدریامایسین (NCAD)، تمرین داوطلبانه+نانوکورکومین+آدریامایسین (VTNCAD) و تمرین اجباری+نانوکورکومین+آدریامایسین (FTNCAD) تقسیم شدند.

برنامه تمرین هوازی اجباری و داوطلبانه

در هفته چهارم به‌منظور آشنایی آزمودنی‌ها با نحوه انجام برنامه تمرین هوازی، پنج جلسه راه رفتن و دویدن روی نوارگردان به‌مدت ۱۰_۵ دقیقه با سرعت ۸_۵ متر در دقیقه در نظر گرفته شد. از هفته پنجم، برنامه تمرین هوازی اجباری روی نوارگردان بدون شیب ویژه‌ی جوندگان با مدت فزاینده و با رعایت اصل اضافه بار از ۲۵ به ۵۴ دقیقه و سرعت ۱۵ به ۲۰ متر در دقیقه، ۵ جلسه در هفته و به‌مدت شش هفته اجرا شد (جدول ۱). گرم کردن و سرد کردن به روش استاندارد انجام شد (۲۴، ۲۵). همچنین از هفته پنجم، آزمودنی‌های سه گروه تمرین داوطلبانه، شش هفته به‌صورت انفرادی در قفس‌های مجهز به چرخ‌دوار (ساخت دانشکده تربیت بدنی دانشگاه مازندران) نگهداری شدند. مسافت طی شده توسط هر یک از آزمودنی‌ها در رأس ساعت مقرر در عصر هر روز توسط محقق یادداشت شد (۲۶).

نانوکورکومین و ترکیب آنها بر فیروز آئورت ناشی از القای مزمن آدریامایسین در موش‌های صحرایی مدل سالمندی پرداخته شده‌است.

• مواد و روش‌ها

محیط تجربی و ملاحظات اخلاقی

جامعه‌ی آماری پژوهش تجربی حاضر شامل موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار، با سن ۱۲ هفته و میانگین وزنی 272 ± 32 گرم مرکز انستیتو پاستور آمل بودند که ۷۰ سر از آنها خریداری شد. حیوانات به‌صورت گروه‌های سه/چهار سر موش در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف (ساخت انستیتو پاستور ایران) در محیطی با دمای ۲۴_۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵_۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری و آب و غذای ساخت شرکت به‌پرور به‌صورت پلت به‌صورت آزاد در دسترسشان قرار گرفت. وزن آزمودنی‌ها در ابتدای پژوهش و هر هفته به‌وسیله ترازوی دیجیتالی با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم (ساخت کمپانی Sartarias آلمان) اندازه‌گیری می‌شد. همه مراحل راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی توسط کمیته اخلاق تحقیقات تجربی (IR.UZ.REC.1402.021) تأیید شد.

مدل‌سازی سالمندی و دسته‌بندی آزمودنی‌ها

پس از یک هفته آشنایی با محیط جدید، مدل‌سازی سالمندی به‌مدت نه هفته و از طریق تزریق درون صفاقی روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، دی‌گالاکتوز (ساخت شرکت Sigma آلمان) محلول در نرمال سالین ۰/۹ درصد انجام گرفت (۲۲، ۲۳). هفته چهارم پس از شروع مدل‌سازی سالمندی،

جدول ۱. جزئیات ۶ هفته برنامه تمرین نوارگردان هوازی اجباری

جلسات تمرین	متغیرهای تمرین	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
اول	سرعت*	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰
	مدت**	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰
دوم	سرعت	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰
	مدت	۲۶	۳۱	۳۶	۴۱	۴۶	۵۱
سوم	سرعت	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰
	مدت	۲۷	۳۲	۳۷	۴۲	۴۷	۵۲
چهارم	سرعت	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰
	مدت	۲۸	۳۳	۳۸	۴۳	۴۸	۵۳
پنجم	سرعت	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰
	مدت	۲۹	۳۴	۳۹	۴۴	۴۹	۵۴

*سرعت بر حسب متر بر دقیقه؛ **مدت بر حسب دقیقه.

آب جاری شستشو شد تا زردی بوان گرفته شود و بعد با آب مقطر شسته شدند. ۱۵ دقیقه محلول هماتوکسیلین و ایگرگت روی بافت ریخته و مجدد با آب جاری و بعد با آب مقطر شستشو شد. لامها را ۲ دقیقه در ببریچ اسکارلت قرار داده و پس از شستشو با آب مقطر، حدود ۱۵-۱۰ دقیقه محلول اسیدفسفوتنگستیک و اسیدفسفومولیبیدیک را روی لامها ریخته تا بعد از آن با آب شستشو داده و سپس ۲۵-۲۰ دقیقه محلول آنیلین بلو روی بافت قرار گرفت. لامها پس از شستشو با آب، ۵-۳ دقیقه با اسیداستیک ۱ درصد شسته شدند. در انتها بافت به ترتیب با الکل ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد هر کدام ۲-۱ دقیقه آگیری شد. در مرحله شفاف سازی، لامها طی دو مرحله ۵ دقیقه ای در گزلیل قرار داده شدند. در مرحله مانته کردن، بر روی لام مورد نظر چسب انتالان ریخته شد و با آغشته کردن لامل با گزلیل با زاویه ۴۵ درجه بر روی لام قرار گرفت و در دمای محیط قرار گرفت.

بررسی لامها توسط میکروسکوپ نوری

از هر منطقه در هر لام به صورت تصادفی توسط میکروسکوپ نوری با لنز ۴۰ عکس برداری شد. عکسها توسط نرم افزار Image J مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت. به این صورت که پس از تعریف خط کش دیجیتال ضخامت لایه تونیکادوانتیسایسا به عنوان منطقه کلارژن و ضخامت لایه تونیکامدیا به عنوان منطقه الاستین اندازه گیری شد. نسبت کلارژن/الاستین با تقسیم منطقه کلارژن بر منطقه الاستین محاسبه شد و برای نشان دادن فیروز ارزیابی شد (۱۵).

روش تجزیه و تحلیل دادهها

نظر به طبیعی بودن توزیع دادهها با آزمون شاپیروویلیک، از آزمونهای آماری پارامتریک آنالیز واریانس دو راهه چندمتغیره و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. اندازه اثر با استفاده از مربع eta جزئی (η^2) محاسبه شد. معنی داری در سطح $p < 0.05$ با نرم افزار SPSS نسخه ۲۸ انجام شد.

• یافتهها

میزان بقاء روزانه در طول مطالعه ارزیابی شد. میزان بقاء ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق آدریامایسین در همه گروهها بجز گروه نانوکورکومین+ADR (۸۷/۵ درصد)، ۱۰۰ درصد بود. دادههای توصیفی مربوط به وزن بدن موشها در ابتدا و انتهای پژوهش گروههای مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. با توجه به این جدول ملاحظه می شود که میانگین وزن در ابتدای پژوهش تفاوت معنی داری میان گروهها ندارد ($p = 0.975$). از طرفی آدریامایسین موجب کاهش وزن بدن در انتهای پژوهش در گروههای دریافت کننده ADR نسبت به گروههای سالین همتای خود شده است ($p = 0.001$).

تزریق داروی آدریامایسین/سالین و مکمل گیری نانوکورکومین

همزمان با دو هفته آخر برنامه تمرین، آدریامایسین هیدروکلراید (ساخت شرکت فایزر استرالیا) روزانه یک میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن به صورت زیرصفاقی به گروههای دریافت کننده تزریق شد. همچنین به منظور یکسان سازی شرایط همه آزمودنیها، به گروههای دیگر نیز یک واحد انسولینی سالین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن شان به صورت زیرصفاقی تزریق شد (۲۷). نظر به جذب ضعیف، متابولیسم سریع، نیمه عمر بیولوژیکی کوتاه و فراهمی زیستی خوراکی ناچیز کورکومین در مقایسه با نانوکورکومین (۲۰)، لذا در مطالعه حاضر از نانوکورکومین (ساخت شرکت نانواکسیر سینا، ایران)، استفاده شد. از هفته نهم، آزمودنیهای گروههای دریافت کننده نانوکورکومین ۱۴ روز مکمل نانوکورکومین را روزانه با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن به وسیله گاواژ دریافت کردند (۲۸).

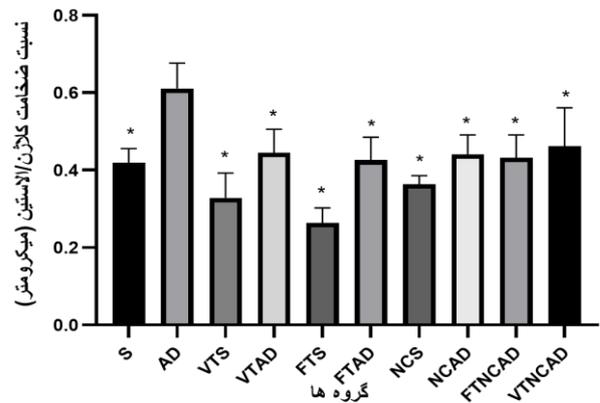
برداشت بافت و اندازه گیری بافت شناسی فیروز آئورت

چهل و هشت ساعت پس از آخرین تیمار آزمودنیهای تمام گروههای تحقیق در شرایط استراحتی، با کتامین و زایلازین به نسبت ۵ به ۲ بیهوش شدند، سپس آئورت از ناحیه ریشه جدا و توسط آب دیونیزه شستشو شد و بخشی از آن جهت بررسیهای بافت شناسی بلافاصله در مایع فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از ۴۸ ساعت پاساژ بافتی به صورت زیر انجام شد: برای آبردایی به ترتیب از درصدهای مختلف الکل ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ (مرحله اول) و ۱۰۰ درصد (مرحله دوم) هر کدام به مدت ۶۰ دقیقه استفاده شد. به منظور شفاف سازی بافت آئورت طی دو مرحله ۴۵ دقیقه ای در گزلیل قرار داده شد. در مرحله Embedding و برش بافتی، بافت آئورت طی دو مرحله ۱ ساعته در پارافین قرار داده شد. سپس با پارافین جدید قالب گیری شد و ۵ دقیقه در دستگاه فور قرار گرفت. سپس تا صبح در دمای محیط قرار داده شد. برش بافتی با دستگاه میکروتوم به ضخامت ۵ میکرومتر زده شد. در مرحله حذف پارافین از روی نمونه، نمونهها در آب گرم قرار داده شدند و بعد برای انتقال بر روی لام، چسب آگ آلبومین زده شد. از هر نمونه بافت آئورت، پنج برش بر روی لام قرار داده شد، سپس لامها برای حذف پارافین اضافه ۱ ساعت در دستگاه فور با دمای ۶۰ درجه گذاشته شدند. بعد طی دو مرحله ۲۰ دقیقه ای در گزلیل قرار داده شدند. در مرحله آب دهی به بافت، لامها ۵-۳ دقیقه به ترتیب در الکل ۱۰۰ درصد (مرحله اول)، الکل ۱۰۰ درصد (مرحله دوم)، الکل ۹۰، ۸۰، ۷۰ درصد و آب مقطر قرار گرفتند. در مرحله رنگ آمیزی، لامها تقریباً ۲۰ ثانیه در محلول بوان قرار داده شدند و یک ساعت در اتوکلاو ۵۶ درجه قرار گرفتند. سپس با

رویکردهای غیردارویی از قبیل تمرینات اجباری و داوطلبانه و نانوکورکومین بوده است، به گونه‌ای که تفاوت معنی‌داری در ضخامت منطقه الاستین بافت آئورت بین گروه‌های مختلف وجود نداشت. بعلاوه، بین تغییرات ضخامت کلژن و نسبت کلژن/الاستین بافت آئورت متعاقب تمرین هوای اجباری و داوطلبانه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. این یافته پژوهش حاضر که القای آدریامایسین موجب فیروز آئورت شد، همسو با یافته‌های حاصل از مطالعات قبلی در خصوص تأثیر القای آدریامایسین بود. در همین راستا، Zhang و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند آنتراسایکلین‌ها برای ایجاد تغییرات منفی سرخرگی مطرح شده‌اند، این تغییرات تاحدی پس از قطع درمان معکوس می‌شوند (۲۹). مکانیزم‌های آئورتوپاتی ناشی از آدریامایسین در جزئیات مشخص نیست. مکانیزم‌های پیشنهادی واسکولوپاتی ناشی از آدریامایسین شامل اختلال عملکرد اندوتلیال (۴)، سرکوب اندوتلین-۱ در سلول‌های اندوتلیال (۳۰)، انحطاط ساختارهای اندوتلیال، آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال و عضلات صاف (۴)، افزایش فعالیت پیش‌برنده انعقاد (۳۱)، اختلال عملکرد عضلات صاف و اختلال در تنظیم مقادیر کلسیم آن است (۳۰). مسمومیت اندوتلیال ناشی از آنتراسایکلین‌ها به نظر می‌رسد تحت تأثیر چندین مکانیزم مانند تجمع دارو در هسته، میتوکندری، ترمیم DNA، مکانیزم‌های سیگنالینگ ناشی از استرس، بهم‌ریختگی شبکه سارکوپلاسمی، استرس نیتراوتوزاتیو، فعالیت در انتقال دهندگان مواد، متابولیسم دارو، مهار TopI و II باشد (۷). ADR می‌تواند به سرعت رادیکال‌های آزاد را از طریق eNOS تولید کند که منجر به کاهش همراه با دسترسی زیستی NO شود (۱۲).

کلژن/الاستین بافت آئورت گروه‌های S ($p < 0.001$)، VTS، FTAD ($p < 0.001$)، FTS ($p = 0.003$)، VTAD ($p < 0.001$)، NCS ($p = 0.001$)، NCAD ($p < 0.002$)، VTNCAD ($p = 0.015$) و FTNCAD ($p = 0.001$) به طور معنی‌داری کمتر از گروه AD بود (شکل ۳ و ۴).

همچنین بین تغییرات ضخامت منطقه کلژن و نسبت ضخامت منطقه کلژن/الاستین بافت آئورت ناشی از القای ADR بین گروه‌های FTAD، VTAD، NCAD، VTNCAD و FTNCAD تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p \geq 0.05$) (شکل ۲، ۳ و ۴).

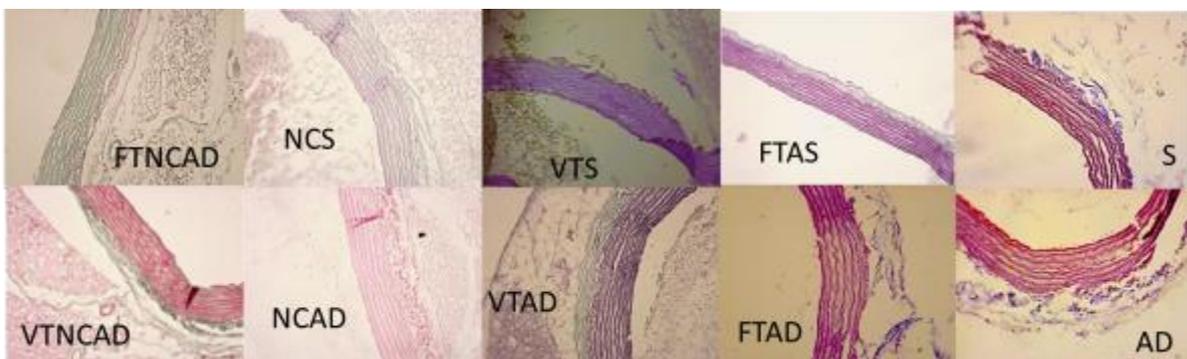


شکل ۳. نسبت ضخامت منطقه کلژن / الاستین بافت آئورت گروه‌های مختلف

S: سالی، AD: آدریامایسین، VTS: تمرین اختیاری + سالی، VTAD: تمرین اختیاری + آدریامایسین، FTAD: تمرین اجباری + سالی، FTAS: تمرین اجباری + آدریامایسین، NCS: نانوکورکومین + سالی، NCAD: نانوکورکومین + آدریامایسین، FTNCAD: تمرین اجباری + نانوکورکومین + آدریامایسین و VTNCAD: تمرین اختیاری + نانوکورکومین + آدریامایسین. * اختلاف معنی دار با گروه AD.

• بحث

نتایج پژوهش حاضر حاکی از وقوع فیروز آئورت متعاقب القای آدریامایسین و کاهش فیروز آئورت متعاقب اجرای



شکل ۴. سرخرگ آئورت با رنگ آمیزی تری کروم مالوری در گروه‌های مختلف

S: سالی، AD: آدریامایسین، FTS: تمرین اجباری + سالی، FTAD: تمرین اجباری + آدریامایسین، VTS: تمرین اختیاری + سالی، VTAD: تمرین اختیاری + آدریامایسین، FTNCAD: تمرین اجباری + نانوکورکومین + آدریامایسین و VTNCAD: تمرین اختیاری + نانوکورکومین + آدریامایسین.

تنظیم مثبت می‌کند که باعث برداشتن رادیکال‌های آزاد می‌شود (۱۲، ۷). از طرفی بین تغییرات فیبروز آئورت ناشی از القای ADR پس از تمرین هوازی اجباری و داوطلبانه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. یکی از دلایل احتمالی این امر ممکن است شدت تمرین ورزشی باشد. شدت تمرین بعنوان یکی از عوامل مهمی است که می‌تواند بر یافته‌های مطالعات مختلف اثرگذار باشد، به‌گونه‌ای که در مطالعاتی که از تمرینات با شدت زیاد استفاده نموده بودند، هم‌افزایی شوک دستگاه و استرس ناشی از القای زیرصفاقی، نتایج متنقضی را به‌دنبال داشت. از این رو، در مقایسه با برخی از مطالعات دیگر، شدت تمرین در مطالعه حاضر برای جلوگیری از شوک مکرر به حیوانات، با رعایت اصل اضافه بار، شدت متوسط در نظر گرفته شد.

موضوع دیگری که برای نخستین بار در مطالعه حاضر بررسی شد، ارزیابی اثرات مجزا و ترکیبی نانوکورکومین و تمرینات هوازی بر فیبروز آئورت بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مکمل‌گیری نانوکورکومین با و بدون تمرینات هوازی اجباری و داوطلبانه، از فیبروز آئورت ناشی از القای آدریامایسین جلوگیری می‌کند که همسو با یافته‌های برخی محققان می‌باشد (۳۳، ۱۹). برای نمونه، مطالعه‌ی محمد و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که عصاره زردچوبه (کورکومین) به‌طور مستقیم از سمیت کلی ADR محافظت می‌کند. اثر محافظتی عصاره زردچوبه با خواص آنتی‌اکسیدانی و زدودن رادیکال آزاد آن همراه است (۳۳). اثرات مفید کورکومین در سیستم عروقی به‌وسیله افزایش سطح همواکسیژناز ۱، NOS و سیرتوین‌ها (sirtuins) ایجاد می‌شود (۳۴). در مطالعه دیگری، Sugawara و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که برنامه تمرین استقامتی همراه با مصرف کورکومین موجب اثرات مطلوبتری بر همودینامیک سرخرگ مرکزی زنان یائسه سالم نسبت به هر کدام از تمرین استقامتی و یا مصرف کورکومین به‌تنهایی شد (۱۹). همچنین علی‌رغم انتظار، نشان داده شد که اثربخشی رویکردهای غیردارویی ترکیبی در مهار فیبروز آئورت ناشی از القای ADR بهتر از اثرات مجزای هر یک از این رویکردها نبود. احتمالاً این موضوع می‌تواند منعکس‌کننده مسیرهای مشترک اثربخشی ورزش و نانوکورکومین در مهار عوارض جانبی آدریامایسین در آئورت باشد که موجب هم‌افزایی اثر نشد.

بنابر نتایج مطالعه حاضر، همه رویکردهای به‌کار رفته در مطالعه حاضر می‌توانند تاحدی از افزایش فیبروز آئورت ناشی از القای آدریامایسین پیشگیری کنند. با در نظر گرفتن اثرات مثبت تمرین هوازی بر عروق از جمله اثرات ضداکسایشی آن و همچنین تأثیر مفید کورکومین بر سیستم قلبی-عروقی این احتمال وجود دارد که بهبود مورد مشاهده در دیواره سرخرگ

طبق نتایج مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری در ضخامت منطقه الاستین بافت آئورت بین گروه‌های مختلف وجود نداشت. در مطالعه‌ای Uhm و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که آدریامایسین تمایل به کاهش کیفیت فیبر الاستین دارد. نتیجه کاهش مقدار الاستین، کاهش استحکام آئورت و افزایش سختی آئورت است و این به معنی پروسه‌های پاتولوژیک و تغییر وضع ساختاری آئورت می‌باشد (۳۲). به‌دلیل اینکه در پژوهش حاضر ضخامت منطقه الاستین بررسی شد و در مطالعه‌ی Uhm و همکاران کیفیت فیبر الاستین مورد توجه قرار گرفته‌است نمی‌توان با قاطعیت نظر داد که عدم تغییر ضخامت منطقه الاستین در مطالعه حاضر به‌منزله عدم تغییر کیفیت فیبر الاستین باشد.

یافته دیگر مطالعه حاضر نشان داد تمرین هوازی اجباری و داوطلبانه قبل و طی تزریق آدریامایسین موجب کاهش فیبروز آئورت شد. این یافته همسو با یافته‌های حاصل از مطالعات قبلی در خصوص تأثیر مهاری و تضعیف‌کننده تمرین بر اثرات جانبی آدریامایسین بود. در همین راستا، در مطالعه‌ای Gibson و همکاران (۲۰۱۳) اختلال عروقی ناشی از ADR و تضعیف آن به‌وسیله ورزش پیش‌درمان را بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که ورزش مزمن اختلال عملکرد عضله صاف عروق مرتبط با درمان ADR را کاهش می‌دهد (۱۲). ورزش علاوه بر بهبود عملکرد اندوتلیال (۱۲، ۱۱)، برای بهبود عملکرد عضلات صاف عروقی نیز مستند شده است. این سازگاری‌ها که در بهبود اداره Ca^{2+} شرکت می‌کند، ممکن است به بهبود عملکرد گیرنده ریانودین شبکه سارکوپلاسمی در رهاسازی و تجزیه Ca^{2+} نسبت داده شود. همچنین تمرین ورزشی اداره Ca^{2+} را با افزایش کانال Ca^{2+} نوع L و تراکم کانال K^{+} فعال شده با Ca^{2+} بهبود می‌بخشد؛ در نتیجه سهمشان را در حفظ غلظت یون و پتانسیل غشاء در سلول‌های عضلانی صاف افزایش داده و تون عروقی را بهبود می‌بخشد. این سازگاری‌ها به ورزش ممکن است منجر به افزایش حساسیت به عوامل وازواکتیو مستقل از اندوتلیوم و بهبود کلی عروقی دیده شده در افراد تمرین کرده تحت درمان ADR شود (۱۲). افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همراه با ورزش استقامتی مزمن ممکن است نقش مهمی در حفظ عملکرد انقباضی و استراحتی عروق با درمان ADR داشته باشد. تولید ROS دسترسی زیستی نیتریک‌اکسید سنتاز مشتق از اندوتلیوم (eNOS) را کاهش می‌دهد، که منجر به کاهش استراحت وابسته به اندوتلیوم می‌شود. از سوی دیگر افزایش تنش برشی در ارتباط با ورزش، یک محرک قدرتمند تولید NO و بازسازی عروق است. علاوه بر این، تنش برشی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز را

این مقاله حاصل بخشی از نتایج رساله دکترا در دانشگاه مازندران بوده که لازم است تا مراتب قدردانی خود را از همکاران محترم که در انجام این پژوهش مساعدت نمودند اعلام داریم.

آنورت در مطالعه حاضر ناشی از این تغییرات باشد. هرچند که مطالعات بعدی برای یافتن سایر مسیرهایی که تمرین هوازی و نانوکورکومین از طریق آن عمل می‌کنند مورد نیاز است.

سپاسگزاری

References

- Ghignatti PVdC, Nogueira LJ, Lehnen AM, Leguisamo NM. Cardioprotective effects of exercise training on doxorubicin-induced cardiomyopathy: a systematic review with meta-analysis of preclinical studies. *Scientific Reports*. 2021;11(1):6330.
- Dulf PL, Mocan M, Coadă CA, Dulf DV, Moldovan R, Baldea I, et al. Doxorubicin-induced acute cardiotoxicity is associated with increased oxidative stress, autophagy, and inflammation in a murine model. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2023;1-11.
- Mustafa S, Ijaz MU, ul Ain Q, Afsar T, Almajwal A, Shafique H, et al. Isorhamnetin: a flavonoid, attenuated doxorubicin-induced testicular injury via regulation of steroidogenic enzymes and apoptotic signaling gene expression in male rats. *Toxicology Research*. 2022;11(3):475-85.
- Murata T, Yamawaki H, Yoshimoto R, Hori M, Sato K, Ozaki H, et al. Chronic effect of doxorubicin on vascular endothelium assessed by organ culture study. *Life sciences*. 2001;69(22):2685-95.
- Zhang Q, Wu L. In vitro and in vivo cardioprotective effects of curcumin against doxorubicin-induced cardiotoxicity: a systematic review. *Journal of Oncology*. 2022;2022.
- Rawat PS, Jaiswal A, Khurana A, Bhatti JS, Navik U. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021;139:111708.
- Gaytan SL, Lawan A, Chang J, Nurunnabi M, Bajpeyi S, Boyle JB, et al. The beneficial role of exercise in preventing doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Frontiers in Physiology*. 2023;14:393.
- Sun J, Zhou J, Sun S, Lin H, Zhang H, Zhong Z, et al. Protective effect of urotensin II receptor antagonist urantide and exercise training on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Scientific Reports*. 2023;13(1):1279.
- Maurer GS, Clayton ZS. Anthracycline chemotherapy, vascular dysfunction and cognitive impairment: burgeoning topics and future directions. *Future Cardiology*. 2022(0).
- Moreo A, Vallerio P, Ricotta R, Stucchi M, Pozzi M, Musca F, et al. Effects of cancer therapy targeting vascular endothelial growth factor receptor on central blood pressure and cardiovascular system. *American Journal of Hypertension*. 2016;29(2):158-62.
- Mclaughlin M, Hesketh KL, Horgan SL, Florida-James G, Cocks M, Strauss JA, et al. Ex Vivo treatment of coronary artery endothelial cells with serum post-exercise training offers limited protection against in vitro exposure to FEC-T chemotherapy. *Frontiers in Physiology*. 2023;14:62.
- Gibson NM, Greufe SE, Hydock DS, Hayward R. Doxorubicin-induced vascular dysfunction and its attenuation by exercise preconditioning. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2013;62(4):355-60.
- Rahimi O, Melo AC, Westwood B, Grier RD, Tallant EA, Gallagher PE. Angiotensin-(1-7) reduces doxorubicin-induced aortic arch dysfunction in male and female juvenile Sprague Dawley rats through pleiotropic mechanisms. *Peptides*. 2022:170784.
- Horta PP, Carvalho. JJ, Mandarim-de-Lacerda C. Exercise training attenuates blood pressure elevation and adverse remodeling in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Life Sciences*. 2005;77:3336-43.
- Souza RRd, Santos SMd, Maifirino LBM, Gama EF, Caperuto EC, Maldonado DC. Resistance training attenuates the effects of aging in the aorta of Wistar rats. *Motriz: Revista de Educação Física*. 2015;21:421-7.
- Pera ML, Speretta GF. Effects of Exercise on Vascular Toxicity Associated with Breast Cancer Treatment: A Narrative Review. *Current Vascular Pharmacology*. 2022.
- Ahmadian M, Dabidi Roshan V. Modulatory effect of aerobic exercise training on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with different ages. *Cardiovascular Toxicology*. 2018;18(1):33-42.
- Chicco AJ, Schneider CM, Hayward R. Voluntary exercise protects against acute doxorubicin cardiotoxicity in the isolated perfused rat heart. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2005;289(2):R424-R31.
- Sugawara J, Akazawa N, Miyaki A, Choi Y, Tanabe Y, Imai T, et al. Effect of endurance exercise training and curcumin intake on central arterial hemodynamics in postmenopausal women: pilot study. *American journal of hypertension*. 2012;25(6):651-6.
- He Y, Yue Y, Zheng X, Zhang K, Chen S, Du Z. Curcumin, inflammation, and chronic diseases: how are they linked? *Molecules*. 2015;20(5):9183-213.
- Moutabian H, Ghahramani-Asl R, Mortezaazadeh T, Laripour R, Narmani A, Zamani H, et al. The cardioprotective effects of nano-curcumin against doxorubicin-induced cardiotoxicity: A systematic review. *Biofactors*. 2022;48(3):597-610.
- Chang Y-M, Chang H-H, Kuo W-W, Lin H-J, Yeh Y-L, Padma Viswanadha V, et al. Anti-apoptotic and pro-survival effect of alpinate oxyphyllae fructus (AOF) in a d-galactose-induced aging heart. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(4):466.
- Kim SY, Lee J. Exercise Training suppresses vascular fibrosis in aging obesity induced rats. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2014;18(2):175.
- 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.
25. 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.
26. Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Mariani D, Rizo-Roca D, Padrão AI, Rocha-Rodrigues S, et al. Physical exercise prior and during treatment reduces sub-chronic doxorubicin-induced mitochondrial toxicity and oxidative stress. *Mitochondrion*. 2015;20:22-33.
27. Hydock DS, Lien C-Y, Jensen BT, Parry TL, Schneider CM, Hayward R. Rehabilitative exercise in a rat model of doxorubicin cardiotoxicity. *Experimental biology and medicine*. 2012;237(12):1483-92.
28. Reddy PS, Begum N, Mutha S, Bakshi V. Beneficial effect of Curcumin in Letrozole induced polycystic ovary syndrome. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 2016;5(2):116-22.
29. Zhang S, Liu X, Bawa-Khalfe T, Lu L-S, Lyu YL, Liu LF, et al. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nature medicine*. 2012;18(11):1639-42.
30. Matsuura C, Brunini TM, Carvalho LC, Resende AC, Carvalho JJ, de Castro JPW, et al. Exercise training in doxorubicin-induced heart failure: effects on the L-arginine-NO pathway and vascular reactivity. *Journal of the American Society of Hypertension*. 2010;4(1):7-13.
31. Ben Aharon I, Bar Joseph H, Tzabari M, Shenkman B, Farzam N, Levi M, et al. Doxorubicin-induced vascular toxicity-targeting potential pathways may reduce procoagulant activity. *PLoS One*. 2013;8(9):e75157.
32. Uhm J-S, Chung W-B, Yoon J-S, Oh Y-S, Youn H-J. Effects of adriamycin and candesartan on the collagen and elastin of the aorta in rats. *Clinical Hypertension*. 2014;20(1):1-8.
33. Mohamad RH, El-Bastawesy AM, Zekry ZK, Al-Mehdar HA, Al-Said MGAM, Aly SS, et al. The role of Curcuma longa against doxorubicin (adriamycin)-induced toxicity in rats. *Journal of medicinal food*. 2009;12(2):394-402.
34. Grabowska W, Kucharewicz K, Wnuk M, Lewinska A, Suszek M, Przybylska D, et al. Curcumin induces senescence of primary human cells building the vasculature in a DNA damage and ATM-independent manner. *Age*. 2015;37:1-17.

Preventive Effects of Forced and Voluntary Aerobic Exercises and Nanocurcumin Supplementation on Aortic Fibrosis Following Chronic Induction of Adriamycin in Aging Rats

Sharifi F*¹, Dabidi Roshan V²

1- PhD, Exercise Physiology, Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

2-* Corresponding Author: Professor, Department of Sports physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran and Athletic Performance and Health Research Center, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. Email: v.dabidi@umz.ac.ir

Received 11 Jul, 2023

Accepted 21 Aug, 2023

Background and Objectives: Despite the effectiveness of Adriamycin in the treatment of various types of cancer, its cardiovascular complications have become challenging, especially in the elderly. The aim of this study was to investigate the preventive effects of forced and voluntary aerobic exercise and nanocurcumin supplementation on aortic fibrosis following chronic induction of adriamycin in aging rats.

Materials & Methods: Seventy 12-week-old male Wistar rats were randomly divided into 10 experimental and control groups. Aging was induced by digalactose (100 mg/kg). Forced aerobic training groups ran five sessions weekly for six weeks on a treadmill (25-54 minutes/day, slope 0%, speed 15-20 meters/minute). Voluntary exercise groups had access to a running wheel for six weeks. In the last two weeks, 15 days of subcutaneous injection (1 mg/kg/day) of adriamycin/saline and 14 days of nanocurcumin induction (100 mg/kg/day) by gavage were performed. Forty-eight hours after the last session, the rats were sacrificed and the ascending aorta was removed. Mallory's trichrome staining was performed for histological analysis. The thickness of the collagen and elastin area was measured.

Results: There was no significant difference in elastin thickness of aortic tissue between different groups ($p=0.197$). Collagen thickness significantly due to voluntary-exercise+Adriamycin ($p=0.003$), forced-exercise+Adriamycin ($p<0.001$), nanocurcumin+Adriamycin ($p<0.001$), voluntary-exercise+nanocurcumin+Adriamycin ($p<0.001$), and forced-exercise+nanocurcumin+Adriamycin ($p<0.001$) was significantly lower than the Adriamycin group. Also, collagen/elastin thickness ratio due to voluntary-exercise+Adriamycin ($p=0.003$), forced-exercise+Adriamycin ($p=0.001$), nanocurcumin+Adriamycin ($p=0.002$), voluntary-exercise+nanocurcumin+Adriamycin ($p=0.015$), and forced-exercise+nanocurcumin+Adriamycin ($p<0.001$) was less than Adriamycin group.

Conclusion: All the approaches used in the present study may be valuable treatments to neutralize the increase in aortic fibrosis caused by Adriamycin, which is partly due to the positive effects of aerobic exercise and also the beneficial effect of nanocurcumin on the cardiovascular system.

Keywords: Aerobic exercise, Adriamycin, Nanocurcumin, Elastin and collagen area, Aorta