

تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی به همراه مصرف کورکومین بر سطوح قلبی ERK1/2، PI3k و IL-18 موش های صحرایی مبتلا به سرطان سینه تحت درمان با دوکسوروبیسین

نرگس لقایی^۱، صدیقه حسین پور دلاور^۱، مهران قهرمانی^{۲*}

مقاله پژوهشی

مقدمه: دوکسوروبیسین باعث افزایش فشار اکسایشی و آسیب های قلبی می شود. به نظر می رسد ERK1/2، PI3k و IL-18 در افزایش آسیب قلبی نقش مهمی دارند. هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی به همراه مصرف کورکومین بر ERK1/2، PI3k و IL-18 بافت قلب موش های سرطانی درمان شده با دوکسوروبیسین است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۱۴ روز پس القای سرطان، ۴۰ سر موش صحرایی ماده ۳ ماهه با وزن ۱۸۰ تا ۱۹۰ گرم به ۵ گروه تقسیم شدند: کنترل سرطان+دوکسوروبیسین، کنترل سرطان+بدون دارو، سرطان+تمرین تناوبی + دوکسوروبیسین، سرطان+کورکومین+دوکسوروبیسین و سرطان+تمرین تناوبی+کورکومین+دوکسوروبیسین. کورکومین با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، یک ساعت بعد از تمرین به دو گروه خوراندند. پروتکل HIIT شامل شش بازه زمانی (۳ دقیقه و ۲۰ ثانیه با شدت در ۸۰٪ - ۹۵٪ VO2max با ۲ دقیقه بازیابی فعال بین هر دوره در ۳۰٪ - ۳۵٪ VO2max) بود. از روش الیزا برای بررسی متغیرها و از نرم افزار SPSS version 16 و آزمون آنوا و آزمون تعقیبی بونفرونی برای بررسی های آماری استفاده شد.

نتایج: در گروه کنترل سرطان+دوکسوروبیسین نسبت به گروه کنترل سرطان+بدون دارو افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱). در گروه تمرین تناوبی + کورکومین + دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کنترل سرطان + دوکسوروبیسین ERK1/2 کاهش داشت (P=۰/۰۰۱) در گروه کنترل سرطان+دوکسوروبیسین نسبت به گروه کنترل سرطان+بدون دارو کاهش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱). گروه تمرین تناوبی + کورکومین + دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کنترل سرطان+دوکسوروبیسین افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱). در گروه کنترل سرطان + بدون دارو افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱). در گروه تمرین تناوبی+کورکومین + دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کنترل سرطان+دوکسوروبیسین کاهش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: مصرف دوکسوروبیسین باعث افزایش ERK1/2 و IL-18 و کاهش PI3K در بافت قلب موش های سرطانی می شود. اما مصرف کورکومین به همراه تمرین باعث کاهش ERK1/2 و IL-18 و افزایش PI3K شد. هر چند تمرین و کورکومین به تنهایی دارای اثرات معناداری در بهبود این متغیرها بودند، اما اثر توأم آن ها به نتایج بهتری منجر شد.

واژه های کلیدی: سرطان، دوکسوروبیسین، کورکومین، تمرین تناوبی

ارجاع: لقایی نرگس، حسین پور دلاور صدیقه، قهرمانی مهران. تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی به همراه مصرف کورکومین بر سطوح قلبی ERK1/2، PI3k و IL-18 موش های صحرایی مبتلا به سرطان سینه تحت درمان با دوکسوروبیسین. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۴؛ ۳۳ (۱): ۸۵۹۳-۸۶۰۳.

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد گیلان غرب، دانشگاه آزاد اسلامی، گیلان غرب، ایران.

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۸۸۳۴۲۷۷۱، پست الکترونیک: mehran.physiology@gmail.com صندوق پستی: ۶۷۸۷۱۸۷۶۰۱

مقدمه

سرطان یک بیماری تهدید کننده حیات است که با رشد سلولی تنظیم نشده و تشکیل تومورهای بدخیم مشخص می‌شود. در سال ۲۰۲۰، حدود ۱۹/۳ میلیون نفر در سراسر جهان مبتلا به سرطان تشخیص داده شدند و نزدیک به ۱۰ میلیون مرگ ناشی از سرطان ثبت شد. راهبردهای درمانی متعددی برای سرطان وجود دارد که از دهه ۱۹۶۰ به طور پیوسته به کاهش میزان مرگ و میر آن کمک کرده است. با این حال، پس از درمان، بسیاری از بازماندگان سرطان ممکن است عوارض جانبی قابل توجهی از درمان را تجربه کنند. یکی از این درمان‌ها دوکسوروبیسین، یک آنتی‌بیوتیک آنتراسایکلین است که اغلب به عنوان شیمی‌درمانی برای درمان تومورهای جامد و بدخیمی‌های هماتوژن استفاده می‌شود. اما نشان داده شده است که استفاده از آن دارای اثرات جانبی بر قلب است (۱). برخی مطالعات از جمله چانگ و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داده‌اند که سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین Doxorubicin (Dox) باعث افزایش گونه‌های اکسیژن فعال Reactive oxygen species (ROS)، اختلال عملکرد میتوکندری و آپوپتوز می‌شود (۲). از طرف دیگر کینازهای ۱ و ۲ تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی (ERK1/2 یا ERK) به دلیل نقش آن‌ها به عنوان یکپارچه‌کننده سیگنال‌های مشتق شده از رویدادهای خارج سلولی مختلف، از اهمیت اولیه برخوردار هستند. در واقع، ERK می‌تواند توسط اینترگرین‌ها، GPCR ها و RTK ها فعال شود، و مهمتر از آن ERK برای سیگنال‌دهی تداخل بین همه این گیرنده‌ها حیاتی است (۳). در همین راستا بقایی و همکاران در سال ۲۰۱۸ در تحقیقی نشان دادند که فشار اکسایشی باعث افزایش ERK1/2 می‌شود (۴). بر اساس نتایج آن‌ها فشار اکسایشی باعث افزایش ERK1/2 شده و از این طریق باعث افزایش هایپرتروفی قلبی می‌شود. از آنجایی که DOX نیز می‌تواند فشار اکسایشی را افزایش دهد، لذا تأثیر آن در افزایش ERK1/2 دور از انتظار نیست. نتایج هوانگ و همکاران در سال ۲۰۱۸ نیز نشان داد که DOX از طریق افزایش فشار اکسایشی و به دنبال آن

ERK1/2 سمیت قلبی را القا می‌کند (۵). از سوی دیگر نقش PI3K در مسیر سیگنالی PI3K/AKT/mTOR حائز اهمیت است. در همین راستا بقایی و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان دادند کلسیم داخل سلولی نقش مهمی در تنظیم فعالیت سلول‌های قلبی دارد اما تجمع بیش از حد کلسیم باعث اختلال عملکرد قلب می‌شود (۶). از جمله مسیرهای سیگنالی که در تنظیم کلسیم داخل سلولی در قلب نقش مهمی دارد مسیر PI3K/AKT است. در همین راستا بقایی و همکاران در سال ۲۰۲۱ گزارش کردند افزایش نوع دفسفوریله AKT باعث افزایش تجمع کلسیم داخل سلولی و افزایش بیان کانال‌های کلسیمی می‌شود (۶). افزایش کلسیم داخل سلولی باعث آسیب قلبی و ایجاد هایپرتروفی قلبی پاتولوژیک می‌شود. دیگر تحقیقات از جمله مطالعه ساهو و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داد درمان DOX به‌طور قابل‌توجهی استرس اکسیداتیو را در سلول‌های میوکارد از طریق تولید بیش از حد ROS، افزایش بیان iNOS، فعال‌سازی NADPH اکسیداز، اختلال Nrf-2/HO-1 و غیرفعال کردن سیستم دفاعی اکسیداسیون و کاهش سلولی القا می‌کند. علاوه بر این، Dox به‌طور قابل‌توجهی MAP کینازها، NF-kB و آپوپتوز را در سلول‌های قلبی فعال کرد. همچنین اختلال قابل‌توجهی در سیگنالینگ PI3K / Akt / mTOR در سلول‌های میوکارد تحت درمان با Dox مشاهده شد (۷). مطالعات کاربون و همکاران در سال ۲۰۱۷ نیز نشان داده است که IL-18 باعث اختلال عملکرد قلب می‌شود. دیگر تحقیقات نیز نشان داده است مسیر ERK1/2 یک مسیر مرکزی برای فعالیت IL-18 ناشی از TNF- α است. به عبارت دیگر TNF- α از طریق مسیر سیگنالی ERK1/2 باعث افزایش فعالیت IL-18 می‌شود (۸). هر چند در مورد اثر DOX بر IL-18 به‌خصوص در سلول قلبی نتایج روشنی ارائه نشده است. به‌نظر می‌رسد استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی و شرکت در فعالیت‌های ورزشی که کاهش دهنده فشار اکسایشی باشد می‌تواند در کاهش اثرات جانبی DOX مؤثر باشد. کورکومین یا دی‌فرویل‌متان جزء فعال ادویه زردچوبه است و دارای خواص ضد التهابی می‌باشد

تهویه جهت خارج شدن بوی نامطبوع به وسیله هواکش بی صدا، قرار داشتن ۴ موش در هر قفس مخصوص جوندگان با جنس پلی کریبات شفاف به ابعاد ۱۵*۲۶*۴۲، دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موش‌های آزمایشگاهی (پلیت). جهت القای سرطان پستان از سلول‌های سرطانی MC4-L2 استفاده شد. برای این منظور سوسپانسیون سلولی با تراکم ۱۰ میلیون سلول در هر میلی لیتر بافر PBS تهیه گردید. موش‌ها در ابتدا با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم زایلوزین که به صورت درون صفاقی به آن‌ها تزریق شد، بی هوش شدند و سپس یک میلیون سلول به صورت زیر جلدی به ناحیه بالای ران سمت راست تزریق شد (۱۴).

۱۴ روز پس القای سرطان، موش‌های صحرایی به ۵ گروه تقسیم شد (هر گروه ۸ موش):

گروه کنترل سرطان تحت درمان با دوکسوروبیسین (کنترل سرطان + دوکسوروبیسین)

گروه کنترل سرطان بدون دارو (کنترل سرطان + دوکسوروبیسین)

گروه تمرین تناوبی تحت درمان با دوکسوروبیسین (سرطان + تمرین + دوکسوروبیسین)

گروه مصرف کورکومین تحت درمان با دوکسوروبیسین (سرطان + کورکومین + دوکسوروبیسین)

گروه تمرین تناوبی + مصرف کورکومین تحت درمان با دوکسوروبیسین (سرطان + تمرین + کورکومین + دوکسوروبیسین) موش‌هایی که توان انجام تمرینات ورزشی نداشتند از تحقیق خارج شد. برای گروه‌های تمرینی، طبق تحقیقات قبلی دوکسوروبیسین با دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ حدوداً ۴ ساعت بعد از تمرین تردمیل به چهار گروه تزریق شد. برای گروه‌های دریافت کننده مکمل، مکمل کورکومین به صورت کپسول ژلاتینی به نام Sinacurcumin که حاوی ۴۰ میلی گرم کورکومین در هر کپسول ساخت شرکت اکسیر نانو سینا (ایران) تهیه شد. چون حیوان امکان استفاده از کپسول را ندارد و برای اطمینان از مقدار دوز مصرفی به صورت گاواژ (به وسیله نیدل گاواژ غذا یا دارو وارد معده می‌شود) خوانده شد.

(۹). یو و همکاران در سال ۲۰۲۰ نیز گزارش کردند کورکومین پیروپتوز کاردیومیوسیت ناشی از دوکسوروبیسین را از طریق روشی وابسته به PI3K/Akt/mTOR سرکوب می‌کند (۱۰). فانگ و همکاران در سال ۲۰۱۸ نیز گزارش کردند کورکومین با تنظیم تکثیر و چرخه سلولی از طریق مهار مسیر سیگنالینگ MAPK/ERK p38 فعالیت فیبروبلاست‌های قلبی را سرکوب می‌کند (۱۱). نقش ورزش نیز بسیار حائز اهمیت است. بقایی و همکاران در سال ۲۰۱۸ نشان دادند ورزش استقامتی سطح ERK1/2 و فشار اکسایشی بافت قلب را در موش‌های میانسال سالم کاهش می‌دهد (۱۲). هم‌چنین بقایی و همکاران در سال ۲۰۲۱ گزارش کردند ورزش کلسیم داخل سلولی بافت را کاهش داده و اختلال مسیر PI3K/AKT را بهبود می‌بخشد (۶). معروفی و همکاران در سال ۲۰۱۹ تأثیر تمرین استقامتی با سلنیوم بر IL-17 و IL-18 در بافت قلب موش‌های صحرایی در معرض مسمومیت با کادمیوم را بررسی و کاهش IL-18 را گزارش کردند (۱۳). با این حال آنچه که مشخص است در مورد تأثیر تمرینات ورزشی و مصرف کورکومین به تنهایی و یا در تعامل با یکدیگر بر مسیر PI3K و ERK1/2 و نیز IL-18 در بافت قلب موش‌های سرطانی تحت درمان با DOX نتایج روشنی گزارش نشده است. لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی به همراه مصرف کورکومین بر سطح برخی آنتی اکسیدان‌ها و پروتئین التهابی بافت قلب موش‌های سرطانی درمان شده با دوکسوروبیسین است.

روش بررسی

تحقیق حاضر از نوع تجربی است که جامعه آماری آن را موش‌های صحرایی ویستار ماده ۳ ماهه با وزن ۱۸۰ تا ۱۹۰ گرم تشکیل داد. ۴۰ از یکی از مراکز آزمایشگاهی تهیه شد. به منظور سازگاری حیوانات با محیط حیوانخانه و کنترل عوامل مخدوش کننده موش‌ها به مدت ۲ هفته قبل از شروع طرح در محیط حیوانخانه به شرح زیر مستقر شد. محیط حیوانخانه با استانداردهای زیر تنظیم و کنترل شد؛ رطوبت نسبی ۵۰٪ ± ۱۰٪، سیکل روشنایی با تایمر مخصوص به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دما ۲۳±۳ درجه سانتی‌گراد،

گرددید. هم‌چنین از برای IL-18 از کیت الایزا SunLong Biotech, Catalogue Number: SL0315Mo, و برای PI3k و ERK1/2 از کیت Cell signaling ساخت آمریکا و به روش الایزا استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق از آزمون شاپیروویلک برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. هم‌چنین از آزمون آنوا و آزمون تعقیبی بونفرونی برای بررسی بین گروهی متغیرها استفاده شد. تمامی بررسی‌ها از طریق نرم افزار SPSS version 16 و در سطح $P \leq 0.05$ انجام شد.

نتایج

از طرف دیگر آزمون تعقیبی نیز مشخص که ERK1/2 در کنترل سرطان+دوکسوروبیسین نسبت به گروه کنترل + سرطان بدون دارو افزایش معناداری داشته است ($P=0.001$). با این حال در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + کورکومین+تمرین در مقایسه با گروه کنترل + سرطان + دوکسوروبیسین ERK1/2 کاهش معناداری داشت ($P=0.001$). هم‌چنین در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + کورکومین + تمرین در مقایسه با گروه سرطان + دوکسوروبیسین + تمرین ($P=0.001$) و گروه سرطان+دوکسوروبیسین + کورکومین ($P=0.003$) مقدار ERK1/2 کمتر بود. هم‌چنین در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + کورکومین در مقایسه با گروه کنترل + سرطان + دوکسوروبیسین ERK1/2 ($P=0.029$) کاهش معناداری داشت. در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + تمرین با گروه کنترل + سرطان + دوکسوروبیسین ERK1/2 ($P=0.001$) کاهش معناداری داشت. بین دو گروه سرطان + دوکسوروبیسین + تمرین و کنترل + سرطان + دوکسوروبیسین + تمرین نیز از نظر ERK1/2 تفاوت معناداری وجود نداشت ($P=0.95$) (نمودار ۱). هم‌چنین نتایج آزمون آنوا نشان داد که در بین گروه‌ها تفاوت معناداری از PI3K وجود دارد ($P=0.001$) (جدول ۱). از طرف دیگر آزمون تعقیبی نیز مشخص که PI3K در گروه کنترل سرطان+دوکسوروبیسین نسبت به گروه کنترل سرطان + بدون دارو کاهش معناداری داشته است ($P=0.001$).

کورکومین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، یک ساعت بعد از تمرین به دو گروه از حیوانات خوراندند شد (گاوژ) (۱۵). برای آشنایی موش‌ها با نوار گردان، به مدت یک هفته قبل از شروع تمرینات، با سرعت ۵ متر بر دقیقه، شیب صفر درجه و مدت زمان ۱۰ دقیقه شروع به فعالیت کرد که این تمرینات در پایان دوره آشنایی با نوارگردان به سرعت ۱۰ متر بر دقیقه، شیب صفر درجه و زمان ۱۵ دقیقه افزایش یافت. هم‌چنین قبل از اعمال پروتکل اصلی تمرینی، موش‌های صحرایی در یک جلسه فعالیت ورزشی وامانده ساز شرکت کردند. برای ارزیابی حداکثر مصرف اکسیژن (VO_{2max})، موش‌ها شروع به دویدن روی تردمیل با سرعت ۸ متر در دقیقه کرد. سرعت هر ۲ دقیقه ۱ متر در دقیقه افزایش می‌یابد تا زمانی که موش‌ها قادر به دویدن روی تردمیل نباشند و بیش از ۱۰ ثانیه روی شوکرها (۰.۲ میلی آمپر) باقی بمانند. این نقطه به عنوان واماندگی تعریف شد (۱۶). پروتکل HIIT شامل شش بازه زمانی (۳ دقیقه و ۲۰ ثانیه با شدت در $VO_{2max} 70\% - 80\%$ با ۲ دقیقه بازیابی فعال بین هر دوره در $VO_{2max} 30\% - 35\%$) بود. هر جلسه از پروتکل فاصله شامل ۳۵ دقیقه (شامل ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن) بود و ۵ روز هفته برای هشت هفته انجام شد. بدین منظور در ابتدای هر هفته صبح یک پروتکل تمرین فزاینده برای بررسی VO_{2max} انجام شد و تمرین HIIT در هر هفته طبق میزان VO_{2max} به دست آمده انجام گرفت. جلسات HIIT در ساعت ۲ بعد از ظهر انجام شد. گرم کردن و سرد کردن در هر جلسه با ولتاژ ۳۰ تا ۴۰ درصد VO_{2max} انجام شد. هم‌چنین گروه کنترل در معرض صدای تردمیل بودند و در این مواقع ورزش نکردند (۱۶). پس از هشت هفته و به فاصله ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی موش‌ها با استفاده از کتامین و زایلازین، (نسبت دو به پنج) بیهوش شده و بافت قلب استخراج شد. بافت‌ها تحت شرایط استریل با نرمال سالین شسته و به سرعت در مخازن نیتروژن مایه به مدت ۲ دقیقه غوطه ور شدند و در آزمایشگاه در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش قربانی کردن: ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین به صورت داخل صفاقی تزریق

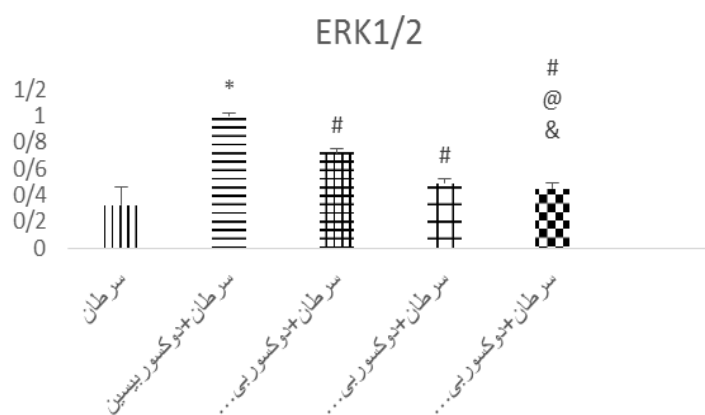
با این حال در گروه سرطان +دوکسوروبیسین+کورکومین+تمرین در مقایسه با گروه کنترل سرطان+دوکسوروبیسین PI3K افزایش معناداری داشت ($P=0/001$). همچنین در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + کورکومین +تمرین در مقایسه با گروه‌ها کنترل سرطان + دوکسوروبیسین+تمرین ($P=0/001$) و گروه سرطان + دوکسوروبیسین + کورکومین ($P=0/001$) مقدار PI3K بیشتر بود. همچنین در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + کورکومین در مقایسه با گروه سرطان+دوکسوروبیسین PI3K ($P=0/009$) افزایش معناداری داشت. در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + تمرین با گروه کنترل سرطان +دوکسوروبیسین ($P=0/001$) افزایش معنادار PI3K مشاهده شد. بین دو گروه سرطان + دوکسوروبیسین +تمرین و سرطان + دوکسوروبیسین +کورکومین نیز از نظر PI3K تفاوت معناداری وجود نداشت ($P=0/66$) (نمودار ۲). نتایج آزمون آنوا نشان داد که در بین گروه‌ها تفاوت معناداری از IL-18 وجود دارد ($P=0/001$) (جدول ۱). همچنین آزمون تعقیبی نیز مشخص که IL-18

در گروه کنترل سرطان + دوکسوروبیسین نسبت به گروه سرطان افزایش معناداری داشته است ($P=0/001$). با این حال در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + کورکومین +تمرین در مقایسه با گروه کنترل سرطان +دوکسوروبیسین IL-18 کاهش معناداری داشت ($P=0/001$). همچنین در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + کورکومین +تمرین در مقایسه با گروه‌های سرطان + دوکسوروبیسین + تمرین ($P=0/99$) و گروه سرطان +دوکسوروبیسین + کورکومین ($P=0/99$) تفاوت معناداری مشاهده نشد. همچنین در گروه سرطان +دوکسوروبیسین + کورکومین در مقایسه با گروه سرطان + دوکسوروبیسین IL-18 ($P=0/001$) افزایش معناداری داشت. در گروه سرطان + دوکسوروبیسین + تمرین با گروه سرطان + دوکسوروبیسین IL-18 کاهش معناداری داشت. بین دو گروه سرطان + دوکسوروبیسین + تمرین و سرطان + دوکسوروبیسین + کورکومین نیز از نظر IL-18 تفاوت معناداری وجود نداشت ($P=0/95$) (نمودار ۳).

جدول ۱: نتایج آزمون ANOVA

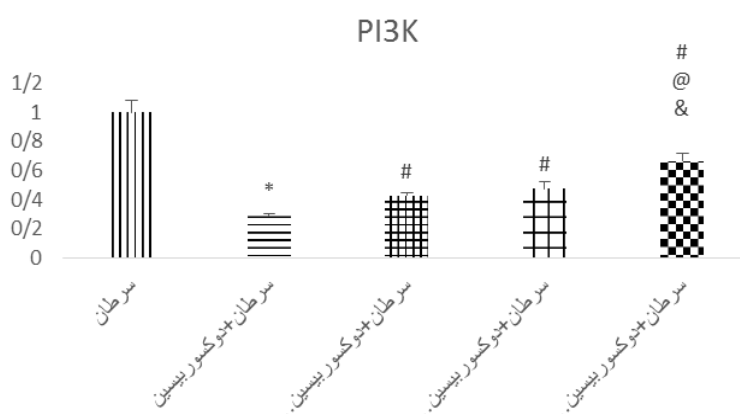
متغیر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	مقدار P
ERK1/2	۱/۱۳	۹	۰/۲۸۲	۹۸۵۷/۲۶	۰/۰۰۱
IL-18	۲۱۱۲۶/۹۹	۹	۵۲۸۱/۷۴	۱۴/۹	۰/۰۰۱
PI3K	۱/۲	۹	۰/۳	۱۲۱/۲۶	۰/۰۰۱

نتایج آزمون آنوا نشان داد که در بین گروه‌ها تفاوت معناداری از ERK1/2 وجود دارد ($P=0/001$) (جدول ۱).



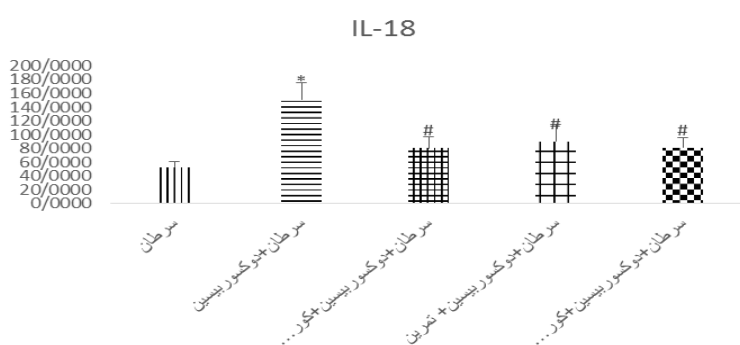
نمودار ۱: مقدار ERK1/2 به تفکیک گروه‌ها

*: معنادر در مقایسه با کنترل سرطان+بدون دارو، #: معنادر در مقایسه با کنترل سرطان+دوکسوروبیسین، @: معنادر در مقایسه با سرطان+دوکسوروبیسین+کورکومین، &: معنادر در مقایسه با سرطان+دوکسوروبیسین+تمرین



نمودار ۲: مقدار PI3k به تفکیک گروه‌ها

*: معنادر در مقایسه با سرطان، #: معنادر در مقایسه با سرطان+دوکسوروبیسین، @: معنادر در مقایسه با سرطان+دوکسوروبیسین



نمودار ۳: مقدار IL-18 به تفکیک گروه‌ها

*: معنادر در مقایسه با سرطان، #: معنادر در مقایسه با سرطان+دوکسوروبیسین

بحث

سرطان یک بیماری تهدید کننده حیات است که با رشد سلولی تنظیم نشده و تشکیل تومورهای بدخیم مشخص می شود. راهبردهای درمانی متعددی برای سرطان وجود دارد که به کاهش مرگ و میر افراد کمک کرده است. با این حال، پس از درمان، بسیاری از بازماندگان سرطان ممکن است عوارض جانبی قابل توجهی از درمان را تجربه کنند (۱). نتایج تحقیق نشان داد که ERK1/2 در اثر دوکسوروبیسین افزایش و PI3K کاهش معناداری داشته است. با این حال در اثر مصرف کورکومین و انجام تمرین ERK1/2 کاهش و PI3K افزایش معناداری داشت. هر چند تمرین و کورکومین به تنهایی باعث کاهش ERK1/2 و افزایش PI3K شدند اما اثر توأم این دو، اثرات بیشتری داشت. در مورد تغییرات ERK1/2 در اثر DOX و اثرات ورزش و کورکومین این یافته ها با نتایج بقایی و همکاران در سال ۲۰۱۸ (۱۲) و هوانگ و همکاران در سال ۲۰۱۸ (۵) همسو است. بقایی و همکاران در سال ۲۰۱۸ (۱۲) نشان دادند ورزش هوازی باعث کاهش ERK1/2 می شود. شاتی و همکاران در سال ۲۰۱۹ نیز در تحقیقی نشان دادند دوکسوروبیسین از طریق فعال سازی کلسینورین و MAPK P38 و مهار مسیرهای سیگنالینگ mTOR، آپوپتوز قلبی NFAT/Fas/FasL را در موش های صحرایی القا می کند (۱۷). در مطالعه دیگری یو و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داد که کورکومین باعث محافظت در برابر سمیت قلبی DOX می شود که با کاهش قابل توجه آنزیم های میوکارد سرم و بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی آشکار می شود. کورکومین اتوفازی را مهار کرد و فواید آشکاری برای زنده ماندن قلب در برابر سمیت ناشی از DOX ارائه کرد. کورکومین پیروپتوز کاردیومیوسیت ناشی از DOX را تضعیف کرد همانطور که توسط دامنه پیرین خانواده NLR حاوی ۳ (NLRP3)، کاسپاز-۱ و سطوح اینترلوکین-۱۸ مشهود است. DOX اختلال در عملکرد قلب (کاهش کوتاه شدن کسری، کسر جهشی، افزایش سطح cTnI پلاسما و TR90، کاهش PS و $\pm dL/dt$)، که اثرات آن آشکارا با ۱۰۰ mg/kg-1 اما نه ۵۰ mg/kg-1 mg/kg-1 تطبیق داده شد. بر اساس نتایج آن ها قرار گرفتن سلول های

H9c2 در معرض DOX افزایش گونه های اکسیژن فعال درون سلولی (ROS) و اتوفازی را نشان داد که اثرات آن توسط کورکومین از بین رفت (۱۰). هم چنین نشان داده شده است که ورزش قبل و در طول دوره درمان با DOX سیگنال های آپوپتوز قلبی مبتنی بر میتوکندری را محدود می کند، خودکار/میتوفازی را تنظیم می کند و از آسیب اکسیداتیو در جوندگان تحت درمان با DOX جلوگیری می کند. فعال سازی AKT برای افزایش بقای قلبی از طریق مهار آپوپتوز و کاهش استرس اکسیداتیو شناخته شده است. کاردیومیوسیت های تحت درمان با DOX به مهار AKT نسبت داده شده اند و در نتیجه مسیرهای MAPK و NF- κ B p38 را فعال می کنند. علاوه بر این، متعاقب تجمع استرس اکسیداتیو، پاسخ التهابی در قلب به فعال شدن مسیر NF- κ B نسبت داده شده است (۱۸). نشان داده شده است که تمرینات ورزشی فسفوریلاسیون AKT را در قلب متسع همراه با کاردیومیوپاتی افزایش می دهد و NF- κ B، TNF- α ، IL-6 و TGF- β 1 تحریک شده با ایزوپرنالین را در میوکارد کاهش می دهد (۱۸). مسیر PI3K-Akt-mTOR نیز برای آبشار سیگنالینگ pro-survival تحت شرایط مختلف مورد نیاز است. در مطالعات قبلی، مشخص شده است که DOX با کاهش مسیر بقای PI3K/Akt/mTOR، آپوپتوز میوکارد را القا می کند. علاوه بر این، مسیر PI3K/Akt/mTOR به عنوان یک تنظیم کننده منفی اتوفازی از طریق اهداف پایین دست تأیید شده است (۱۹). مطالعه قبلی نشان داد که کورکومین از طریق تحریک آبشار سیگنال Akt از کاردیومیوپاتی ناشی از گلوکز بالا محافظت می کند. سکویارا و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان دادند تمرین هوازی با کاهش فیبروز و حفظ یکپارچگی میوفیبریل ها و سازمان سارکومر، تغییرات قابل توجهی در ساختار میوکارد ایجاد کرد. این با کاهش آسیب اکسیداتیو LV و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و افزایش فعال شدن مسیر PI3K-Akt همراه بود (۱۹). از طرف دیگر نتایج تحقیق نشان داد که IL-18 در گروه سرطان +دوکسوروبیسین نسبت به گروه سرطان افزایش معناداری داشته است. با این حال در گروه سرطان +دوکسوروبیسین +کورکومین +تمرین در مقایسه با گروه سرطان +

توقف سیتوکین های پیش التهابی عمل می کند و بنابراین از تولید IL-18 جلوگیری می کند (۲۳).

نتیجه گیری

به نظر می رسد استفاده از دوکسوربیسین در نمونه های مبتلا به سرطان از طریق افزایش ERK1/2 و IL-18 و نیز کاهش PI3K باعث آسیب قلبی می شود. اما نتایج اما ما نشان داد که کورکومین به همراه تمرین باعث کاهش ERK1/2 و IL-18 و افزایش PI3K در موش های صحرایی مبتلا به سرطان سینه تحت درمان با دوکسوربیسین می شود. هر چند با قطعیت نمی توان نتایج این تحقیق را با قطعیت به همه بیماران سرطانی نسبت داد، اما از آنجایی که تمرین و کورکومین هر دو قادر به کنترل فشار اکسایشی و التهاب هستند در ترکیب با یکدیگر می تواند به نتایج خوبی در بیماران سرطانی و کاهش عوارض داروهای شیمی درمانی منجر شود.

سپاس گذاری

این مقاله مستخرج از رساله دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه از همه کسانی که با ما همکاری داشته اند تشکر و سپاس گذاری می کنیم.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارند.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این مقاله توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه با کد IR.IAU.KSH.REC.1402.098 تایید شده است.

مشارکت نویسندگان

نویسنده اول و دوم و سوم: در ارائه ایده و طراحی مطالعه، نویسنده اول: در جمع آوری داده ها و تجزیه و تحلیل داده ها و تفسیر نتایج، نویسنده اول: نگارش نسخه اولیه، نویسنده سوم: ویرایش نسخه اول مقاله مشارکت داشته اند، در ضمن همه نویسندگان در تدوین، ویرایش اولیه و نهایی مقاله و پاسخگویی به سوالات مرتبط با مقاله سهیم هستند.

دوکسوربیسین IL-18 کاهش معناداری داشت. در گروه سرطان + دوکسوربیسین + کورکومین در مقایسه با گروه سرطان + دوکسوربیسین IL-18 افزایش معناداری داشت. در گروه سرطان + دوکسوربیسین + تمرین و گروه سرطان + دوکسوربیسین + کورکومین نیز IL-18 کاهش معناداری داشت. در مورد تأثیر کورکومین و تمرین ورزشی بر IL-18 در نمونه های درمان شده با دوکسوربیسین نتایج روشنی گزارش نشده است. اما یاداو و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند کورکومین تولید سیتوکین اینترلوکین ۱۸ التهابی را در سلول های ماکروفاژ مانند موش تحریک شده با لیپوپلی ساکراید سرکوب می کند (۲۰). مکانیسم هایی که توسط آن کورکومین تولید IL-18 را در سلول های ماکروفاژ مانند تحریک شده با LPS سرکوب می کند، نامشخص است. با این حال، پیشنهاد می شود که مهار فاکتور رونویسی NF- κ B و مسیر سیگنالینگ MAPK ممکن است یکی از دلایل احتمالی پشت چنین رویدادی باشد (۲۰). برخی از محققان گزارش کرده اند که کورکومین فعالیت پروتئین های NF- κ B را از بین می برد (۲۱) که تصور می شود نه تنها در تنظیم بیان بسیاری از سیتوکین ها و کموکاین های پیش التهابی، بلکه در کنترل بیان طیف وسیعی از پروتئین ها نقش اساسی دارد. ژن هایی که به شدت برای تمایز سلولی، تکثیر سلولی، بقای سلولی، تهاجم، آپوپتوز، رگ زایی، تومورزایی، متاستاز، مقاومت در برابر پرتو و مقاومت شیمیایی و سایر پروتئین های عضو آبشار سیگنال دهی NF- κ B یعنی I κ B, I κ B کیناز b مورد نیاز هستند. در مورد اثر ورزش نیز سون و همکاران در سال ۲۰۱۶ در تحقیقی گزارش کردند مکمل زنجبیل با تمرین هوازی روشی مناسب برای کاهش IL-18 و CRP و پیشگیری از بیماری های متابولیک، قلبی عروقی و التهابی در مردان چاق باشد. به نظر می رسد اثر ورزش در کاهش التهاب از طریق تأثیر بر مهار TNF- α رخ می دهد. مهار TNF- α توسط ورزش باعث مهار تولید IL-18 و CRP می شود (۲۲). ترکیبی از تمرین و مصرف کورکومین از طریق از کار انداختن مسیر NF κ B (یک عامل هسته ای که رونویسی سیتوکین ها را فعال می کند) به عنوان یک عامل ضد سرطان و ضد التهاب با

References:

- 1-Belger C, Abrahams C, Imamdin A, Lecour S. **Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity and Risk Factors**. Int J Cardiol Heart Vasc 2023; 50: 101332.
- 2-Chang D, Li H, Qian C, Wang Y. **Diohf Protects Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity Through ERK1 Signaling Pathway**. Front Pharmacol 2019; 10: 1081.
- 3-Gilbert CJ, Longenecker JZ, Accornero F. **ERK1/2: An Integrator of Signals that Alters Cardiac Homeostasis and Growth**. Biology 2021; 10(4): 346.
- 4-Baghaiee B, Siahkhouhian M, Karimi P, Teixeira AMB, Kheslat SDN. **Weight Gain and Oxidative Stress in Midlife Lead to Pathological Concentric Cardiac Hypertrophy in Sedentary Rats**. J Clin Res Paramed Sci 2018; 7(1): e79957.
- 5-Huang CY, Chen JY, Kuo CH, Pai PY, Ho TJ, Chen TS, et al. **Mitochondrial ROS- induced ERK1/2 activation and HSF2- mediated AT1R upregulation are required for doxorubicin- induced cardiotoxicity**. J Cell Physiol 2018; 233(1): 463-75.
- 6-Baghaiee B, Bayatmakoo R, Karimi P, Pescatello L. **Moderate Aerobic Training Inhibits Middle-Aged Induced Cardiac Calcineurin-NFAT Signaling by Improving TGF- β , NPR-A, SERCA2, and TRPC6 in Wistar Rats**. Cell J 2021; 23(7): 756-62.
- 7-Sahu R, Dua TK, Das S, De Feo V, Dewanjee S. **Wheat Phenolics Suppress Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity Via Inhibition of Oxidative Stress, MAP Kinase Activation, NF-K β Pathway, PI3K/Akt/Mtor Impairment, and Cardiac Apoptosis**. Food Chem Toxicol 2019; 125: 503-19.
- 8-Carbone S, Lee P, Mauro A, Mezzaroma E, Buzzetti R, Van Tassell B, et al. **Interleukin-18 Mediates Cardiac Dysfunction Induced by Western Diet Independent of Obesity and Hyperglycemia in the Mouse**. Nutrit Diabetes 2017; 7(4): e258.
- 9-Mansouri K, Rasoulpoor S, Daneshkhah A, Abolfathi S, Salari N, Mohammadi M, et al. **Clinical Effects of Curcumin in Enhancing Cancer Therapy: A Systematic Review**. BMC Cancer 2020; 20(1): 791.
- 10-Yu W, Qin X, Zhang Y, Qiu P, Wang L, Zha W, et al. **Curcumin Suppresses Doxorubicin-Induced Cardiomyocyte Pyroptosis Via a PI * K/Akt/Mtor-Dependent Manner**. Cardiovasc Diagn Ther 2020; 10(4): 752-69.
- 11-Fang G, Chen S, Huang Q, Chen L, Liao D. **Curcumin Suppresses Cardiac Fibroblasts Activities by Regulating the Proliferation and Cell Cycle Via the Inhibition of the P3 $^{\wedge}$ MAPK/ERK Signaling Pathway**. Mol Med Rep 2018;18(2):1433-8.
- 12-Baghaiee B, Karimi P, Siahkhouhian M, Pescatello LS. **Moderate Aerobic Exercise Training Decreases Middle-Aged Induced Pathologic Cardiac Hypertrophy by Improving Klotho Expression, MAPK Signaling Pathway, and Oxidative Stress Status in Wistar Rats**. Iran J Basic Med Sci. 2018; 21(9): 911-9.
- 13-Marooofi A, Rouch AB, Naderi N, Damirchi A. **Effects of Two Different Exercise Paradigms on Cardiac Function, BDNF-Trkb Expression, and Myocardial Protection in the Presence and Absence of Western Diet**. Int J Cardiol Heart Vasc 2022; 40: 101022.

- 14-Karimi F, Behboudi Tabrizi L. *The Effects of Six Weeks of Aerobic Training on The Tumor Volume and Oncostatin-M Serum Level in Mice with Breast Cancer*. JRUMS 2018; 17(2): 105-14.
- 15-Sadeghian S, Kazemzadeh Y, Mohammadnejadpanah Kandi Y, Mirzayan Shanjani S, Sedaghati S. *The Effect of Aerobic Exercise with Curcumin Consumption on Tissue Apoptosis Indices in The Liver Tissue of Rats Induced by Breast Cancer in the Doxorubicin Treatment Phase: An Experimental Study*. JRUMS 2022; 21(4): 433-48.
- 16-Nezamdoost Z, Saghebjoor M, Hoshyar R, Hedayati M, Keska A. *High-Intensity Training and Saffron: Effects on Breast Cancer-Related Gene Expression*. Med Sci Sports Exerc. 2020; 52(7): 1470-76.
- 17-Shati AA. *Doxorubicin- induces NFAT/Fas/FasL cardiac apoptosis in rats through activation of calcineurin and P38 MAPK and inhibition of mTOR signalling pathways*. Clin Exp Pharmacol Physiol 2020; 47(4): 660-76.
- 18-Yang HL, Hsieh PL, Hung CH, Cheng HC, Chou WC, Chu PM, et al. *Early Moderate Intensity Aerobic Exercise Intervention Prevents Doxorubicin-Caused Cardiac Dysfunction through Inhibition of Cardiac Fibrosis and Inflammation*. Cancers 2020; 12(5): 1102.
- 19-Sequeira CM, Martins MA, Alves R, Nascimento ALR, Botti GCRM, Rocha VN, et al. *Aerobic Exercise Training Attenuates Doxorubicin-Induced Ultrastructural Changes in Rat Ventricular Myocytes*. Life Sci 2021; 264: 118698.
- 20-Yadav R, Jee B, Awasthi SK. *Curcumin suppresses the production of pro-inflammatory cytokine interleukin-18 in lipopolysaccharide stimulated murine macrophage-like cells*. Indian J Clin Biochem 2015; 30: 109-12.
- 21-Singh S, Aggarwal BB. *Activation of Transcription Factor NF-Kb Is Suppressed by Curcumin (Diferuloylmethane)(*)*. Journal of Biological Chemistry 1995; 270(42): 24995-5000.
- 22-Sun Z, Yan B, Yu WY, Yao X, Ma X, Sheng G, et al. *Vitexin Attenuates Acute Doxorubicin Cardiotoxicity in Rats Via the Suppression of Oxidative Stress, Inflammation And Apoptosis and the Activation of FOXO3a*. Experimental and therapeutic medicine 2016; 12(3): 1879-84.
- 23-Ayubi N, Kusnanik NW, Herawati L, Callixte C, Ming JW, Aljunaid M, et al. *Potential of Curcumin to Reduce Serum Nuclear Factor-Kappa B (NF-KB) Levels after High-Intensity Exercise*. Retos: nuevas tendencias en educación física, deporte y recreación 2024(57): 616-22.

Effect of Eight Weeks of Interval Training Combined with Curcumin Consumption on Cardiac ERK1/2, PI3k and IL-18 Levels in Rats with Breast Cancer Treated with Doxorubicin

Narges Laghaei¹, Sedigheh HosseinpourDelavar¹, Mehran Ghahramani^{*2}

Original Article

Introduction: Doxorubicin increases oxidative stress and cardiac damage. ERK1/2, PI3k, and IL-18 seem to play an important role in increasing cardiac damage. The aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of interval training with curcumin on ERK1/2, PI3k, and IL-18 in the heart tissue of cancer mice treated with doxorubicin.

Methods: In this experimental study, Fourteen days post-cancer induction, a total of 40 rats aged between 4 to 6 months were divided into 5 distinct groups: cancer control+doxorubicin, cancer control+no drug, cancer+intermittent exercise+doxorubicin, cancer+curcumin+doxorubicin, and cancer+intermittent exercise+curcumin+doxorubicin. Curcumin was administered to two of these groups at a dosage of 100 mg/kg, one hour after training sessions. The high-intensity interval training (HIIT) protocol consisted of six intervals each lasting 3 minutes and 20 seconds at 80%-95% of VO₂max, interspersed with 2 minutes of active recovery at 30%-35% of VO₂max. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) was utilized to examine variables, and the statistical analyses were conducted using SPSS software version 16, applying ANOVA along with Bonferroni post hoc tests.

Results: ERK1/2 was significantly increased in the cancer control + doxorubicin group compared to the cancer control + no drug group (P=0.001). In the interval training + curcumin + doxorubicin group, ERK1/2 was significantly decreased compared to the cancer control + doxorubicin group (P=0.001). PI3K was significantly decreased in the cancer control + doxorubicin group compared to the cancer control + no drug group (P=0.001). PI3K was significantly increased in the interval training + curcumin + doxorubicin group compared to the cancer control + doxorubicin group (P=0.001). IL-18 was significantly increased in the cancer control + doxorubicin group compared to the cancer control + no drug group (P=0.001). In the interval training + curcumin + doxorubicin group, IL-18 was significantly decreased compared to the cancer control + doxorubicin group (P=0.001).

Conclusion: The administration of doxorubicin resulted in elevated levels of ERK1/2 and IL-18 while reducing PI3K in the heart tissue of cancer-affected mice. In contrast, the combination of curcumin administration and exercise reduced ERK1/2 and IL-18 levels while increasing PI3K. While both curcumin and exercise individually showed considerable benefits in enhancing these factors, their combined effect produced even more effective outcomes.

Keywords: Cancer, Doxorubicin, Curcumin, Interval Training.

Citation: Laghaei N, HosseinpourDelavar S, Ghahramani M. **Effect of Eight Weeks of Interval Training Combined with Curcumin Consumption on Cardiac ERK1/2, PI3k and IL-18 Levels in Rats with Breast Cancer Treated with Doxorubicin.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2025; 33(1): 8593-8603.

¹Department of Exercise Physiology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

²Department of Exercise Physiology, Gilan-E-Gharb Branch, Islamic Azad University, Gilan-E-Gharb, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09188342771, email: mehran.physiology@gmail.com