

## The effect of Troxerutin combined with high intensity interval training on heart injury and expression of antioxidant genes in doxorubicin-induced cardiac toxicity in male rats

Aboalghasem Taghavi Holagh<sup>1</sup>, Hossein Abed Natanzi<sup>1\*</sup>, Reza Badalzadeh<sup>2</sup>, Farshad Ghazalian<sup>1</sup>

1. Department of Physical Education and Sports Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Professor of Medical Physiology, Molecular Medicine Research Center, and Dept. of Physiology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

\* Corresponding author e-mail: [abednazari@gmail.com](mailto:abednazari@gmail.com)

**Citation:** Taghavi Holagh A, Abed Natanzi H, Badalzadeh R, Ghazalian F. The effect of Troxerutin combined with high intensity interval training on heart injury and expression of antioxidant genes in doxorubicin-induced cardiac toxicity in male rats. *Daneshvar Medicine* 2021; 29(2):78-89. doi: [10.22070/DANESHMED.2021.13863.1039](https://doi.org/10.22070/DANESHMED.2021.13863.1039)

### Abstract

**Background and Objective:** Cancers represent an important cause of morbidity and mortality, cause more than 12% of deaths in the world. Doxorubicin (DOX) is an effective drug in the treatment of various cancers whose usage has been limited due to cardiac toxicity. Troxerutin (TRX) is derived from rutin flavonoids and has multiplex pharmacological properties. The present study aimed to investigate the combined effect of troxerutin and high-intensity interval training (HIIT) on DOX-induced cardiac toxicity and the expression of antioxidant genes in rat hearts.

**Materials and Methods:** Male Wistar rats were randomly divided into five groups (n = 10): 1) Control, 2) DOX, 3) HIIT + DOX, 4) TRX + DOX, and 5) HIIT + TRX + DOX. After the last session of HIIT, the trained and time-matched control rats were injected with DOX (20 mg/kg, ip). The Creatine kinase (CKMB) and Lactate-dehydrogenase (LDH) changes were measured by spectrophotometry and ELISA. Expression of antioxidant genes was measured by Real-Time PCR.

**Results:** DOX injection increased serum CKMB and LDH in rats in comparison to the control group (P<0.05) and (P <0.01), respectively. HIIT exercise and troxerutin, alone or in combination, reduced the serum CKMB and LDH levels (P<0.05) and their combined effect was greater than those of individual treatments (P<0.01). DOX injection decreased the expression of Nrf2 and Foxo1 antioxidant genes as compared with a control group (P <0.01). HIIT exercise and troxerutin consumption alone increased the expression of the Foxo1 gene as compared with the DOX group (P <0.05) and their combined effect was greater than either alone (P <0.01). HIIT exercise and troxerutin consumption alone increased the expression of the Nrf2 gene insignificantly, but their combined effect was significantly increased (P <0.01).

**Conclusion:** The combined effect of HIIT exercise and troxerutin is a promising strategy to prevent DOX-induced cardiac toxicity and increase the expression of antioxidant genes in rat hearts.

**Keywords:** Doxorubicin, High-intensity interval training, Troxerutin, Cardiac Toxicity, Antioxidant genes

Received: 18 Feb 2021  
Last revised: 09 June 2021  
Accepted: 16 June 2021

# تأثیر تروگزروتین توأم با ورزش تناوبی شدید بر آسیب قلبی و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی در سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر

## مقاله پژوهشی

نویسندگان: ابوالقاسم تقوی هلق<sup>۱</sup>، حسین عابد نطنزی<sup>۱\*</sup>، رضا بدل زاده<sup>۲</sup>، فرشاد غزالیان<sup>۱</sup>

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران،

ایران

۲. مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی و گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز،

ایران

\*نویسنده مسئول: دکتر حسین عابد نطنزی Email: abednazari@gmail.com

### چکیده

**مقدمه و هدف:** امروزه سرطان‌ها به‌عنوان عامل مهم بیماری، باعث بیش از ۱۲ درصد از مرگ‌ومیرها در جهان می‌باشد. دوکسوروبیسین (DOX)، داروی مؤثر در درمان انواع سرطان است که کاربرد آن به دلیل سمیت قلبی ناشی از دوز تجمعی به میزان زیادی محدود شده است. تروگزروتین (TRX) از فلاونوئیدروتین مشتق می‌شود و خواص فارماکولوژیکی دارد. هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر توأم تروگزروتین و تمرین HIIT در کاهش سمیت قلبی ناشی از DOX و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های قلبی رت‌ها است.

**مواد و روش‌ها:** رت‌های ویستار نر بصورت تصادفی در پنج گروه (n=۱۰) تقسیم شدند: (۱) Control، (۲) DOX، (۳) HIIT+DOX، (۴) TRX+DOX، (۵) HIIT+TRX+DOX. پس از آخرین تمرین HIIT، رت‌های تمرین کرده و گروه کنترل مربوطه تحت تزریق داخل صفاقی DOX قرار گرفتند. میزان تغییرات LDH و CKMB، با روش اسپکتوفوتومتری و تست الایزا و میزان بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی با روش Real-Time PCR اندازه‌گیری شد.

**نتایج:** تزریق DOX میزان CKMB و LDH سرم را در رت‌ها با سطح معنی‌داری به ترتیب ( $P < 0.05$ ) و ( $P < 0.01$ ) افزایش داد. تمرین HIIT و مصرف تروگزروتین، هر کدام به تنهایی، میزان CKMB و LDH سرم را کاهش داد ( $P < 0.05$ ) و تأثیر توأم آنها بیشتر از هرکدام به تنهایی بود ( $P < 0.01$ ). تزریق DOX میزان بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی Nrf2 و Foxo1 را کاهش داد ( $P < 0.01$ ). تمرین HIIT و مصرف تروگزروتین، هر کدام به تنهایی، میزان بیان ژن Foxo1 را افزایش داد ( $P < 0.05$ ) و تأثیر توأم آنها بیشتر از هرکدام به تنهایی بود ( $P < 0.01$ ). تمرین HIIT و مصرف تروگزروتین، هر کدام به تنهایی، میزان بیان ژن Nrf2 را بطور غیرمعنی‌دار افزایش داد ولی تأثیر توأم آنها، افزایش معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ).

**نتیجه‌گیری:** تأثیر توأم تمرین HIIT و تروگزروتین برای پیشگیری از سمیت قلبی ناشی از DOX و افزایش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های قلبی رت‌ها مؤثرتر از کاربرد هریک از این راه‌کارها به تنهایی می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** دوکسوروبیسین، تمرین تناوبی شدید، تروگزروتین، سمیت قلبی، ژن‌های آنتی‌اکسیدانی

دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۳۰

آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۰/۰۳/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۶

## مقدمه

سرطان به بیش از یک‌صد بیماری اطلاق می‌شود که تکثیر سلولی کنترل نشده مشخص اصلی آن می‌باشد، تعداد افراد سرطانی در دهه‌های اخیر به شدت افزایش یافته است. امروزه سرطان‌ها به‌عنوان عامل مهم بیماری، باعث بیش از ۱۲ درصد از مرگ‌ومیرها در جهان می‌باشد (۱). درمان رایج برای سرطان شامل جراحی، شیمی‌درمانی و پرتوافشانی است که علاوه بر اثرات جانبی شدید، میزان ماندگاری کمی داشته و نتایج بالینی برای بسیاری از سرطان‌ها را محدود نموده است (۲).

دوکسوروبیسین ( $DOX^1$ )، متعلق به خانواده آنتراسیکلین و یکی از داروهای مؤثر در درمان انواع سرطان‌ها مثل سرطان سینه، تخمدان، غدد لنف و مغز استخوان است (۳). این دارو معمولاً بصورت تزریق وریدی استفاده می‌شود (۴). استفاده از دوکسوروبیسین به دلیل عوارض جانبی شدید مربوط به دوز تجمعی آن، بویژه سمیت قلبی که منجر به اختلال عملکرد بطن چپ، کاردیومیوپاتی گشادشده و نارسایی قلبی می‌گردد محدود شده است (۵). عوارض قلبی دوکسوروبیسین از طرق مختلفی مثل ایجاد تغییراتی در فرایندهای سلولی، آپوپتوز، اتوفازی، ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد میتوکندری بوجود می‌آید (۶). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که سمیت ناشی از  $DOX$  باعث تکه‌تکه شدن<sup>۲</sup> میتوکندری می‌شود (۷). و معلوم شده است که تکه‌تکه شدن میتوکندری، عملکرد سلولی و مرگ سلولی (آپوپتوز) را میانجی‌گری می‌کند (۸). تولید زیاد گونه‌های واکنشی اکسیژن ( $ROS^3$ ) و اختلال عملکرد میتوکندری به‌عنوان مکانیسم‌های بیشتر پذیرفته شده سمیت قلبی ناشی از  $DOX$  پیشنهاد شده‌اند (۹). میتوکندری منبع اصلی تولید  $ROS$  در اندام‌های با متابولیسم بالا مانند قلب است افزایش تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن بطور همزمان منجر به مهار سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۱۰). پروتئین‌های Foxo1 (۱۰) و Nrf2 (۱۰). در تنظیم متابولیسم و استرس اکسیداتیو نقش مهمی ایفا می‌کند عوامل بیان این پروتئین‌ها، بیان ژن‌های کدکننده فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی را تنظیم می‌کنند (۱۰).

یکی از راهکارها و مداخلات درمانی به منظور کاهش عوارض جانبی  $DOX$ ، استفاده از ورزش و فعالیت بدنی است (۱۲). برخی گزارش‌ها، ادعا کرده‌اند که ورزش استقامتی مزمن باعث کاهش تولید اکسیدان میتوکندری (۱۳). و همچنین باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی میتوکندریایی می‌شود (۱۴). که می‌تواند استرس اکسیداتیو ناشی از تحریک‌کننده‌های متفاوت استرس را کاهش دهد (۱۵). در سیستم قلبی عروقی بیماران تأثیر مثبت دارد (۱۲). نشان داده شده است که HIIT در ایجاد سازگاری-های قلبی عروقی در بیماران قلبی خفیف تا حاد، مؤثرتر از تمرینات استقامتی با شدت متوسط است و به نظر می‌رسد جایگزین مناسب و مؤثری برای توانبخشی بیماران مبتلا به  $CAD^4$  و  $HF^5$  است. همچنین ممکن است در بهبود پایبندی به تمرینات ورزشی کمک کند (۱۷). جارت و همکاران (۲۰۱۶) بیان کرده‌اند که HIIT قبل و در حین درمان با  $DOX$  می‌تواند از طریق افزایش مقادیر آنتی-اکسیدانی در بافت قلبی از عوارض جانبی قلبی ناشی از  $DOX$  بکاهد (۱۸). ابراهیمی و همکاران (۱۳۹۸) نیز نشان دادند که ۸ هفته فعالیت ورزشی HIIT قبل از القای  $DOX$  می‌تواند از طریق مهار کاهش بیان  $PGC-1\alpha$  ناشی از القای  $DOX$  از سلول‌های قلب محافظت کند (۱۹). در پی درمان با  $DOX$ ، بیومارکرهای آسیب قلبی سرم خون افزایش می‌یابد (۲۰). تشخیص اولیه سمیت قلبی ناشی از  $DOX$  می‌تواند روش پیشگیری مناسبی را ایجاد کند (۲۱). در مطالعه ای، شیرین‌بیان و راشن گزارش کردند که مصرف  $DOX$  منجر به افزایش سطح بیومارکرهای آسیب قلبی شامل  $LDH^6$  و  $CK_{MB}^7$  در سرم رت‌ها شد (۲۲). همچنین ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۹) نتیجه گرفتند که تمرین HIIT از طریق کاهش بیومارکرهای آسیب قلبی در پلاسما ( $CK-MB$  و  $LDH$ ) از قلب در برابر سمیت قلبی ناشی از  $DOX$  محافظت می‌کند (۲۳). تروگزروتین (ویتامین P4، TRX) (با فرمول شیمیایی C33H42O19) از فلاونوئیدروتین مشتق می‌شود. این فلاونوئید عمدتاً از گیاه تلخ‌بیان ژاپنی<sup>۸</sup> استخراج می‌گردد که در چای، قهوه و برخی میوه‌ها نیز

<sup>۴</sup> Coronary artery disease

<sup>۵</sup> Heart failure

<sup>۶</sup> Lactate dehydrogenase

<sup>۷</sup> Cratin kinase

<sup>۸</sup> Japonica sophora

<sup>۱</sup> Doxorubicin

<sup>۲</sup> Fragmentation

<sup>۳</sup> Reactive oxygen species

مطابقت با معیارهای اخلاقی وزارت علوم، تحقیقات و فن-آوری، با کد IR.SSRI.REC.1398.669 مورد تأیید واقع شده است.

در ابتدا موش‌های بزرگ آزمایشگاهی مربوط به گروه‌های فعالیت ورزشی به منظور آشنا شدن با فعالیت ورزشی به مدت یک هفته در نوارگردان حیوانی با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه تمرین کردند. سپس در ابتدای هر دو هفته میزان  $VO_{2max}$  حیوانات مورد ارزیابی قرار گرفت: با توجه به دسترسی نداشتن به ابزار مستقیم مانند دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی با توجه به پژوهش‌های اخیر (۲۷ و ۲۸). پروتکل غیرمستقیمی با دقت زیاد در ابتدا پایلوت و استفاده شد، بطوریکه بعد از ۲۰-۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰٪  $VO_{2max}$ ، سرعت نوارگردان هر دو دقیقه یک بار به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر بر دقیقه) افزایش داده می‌شد تا حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. ملاک رسیدن به  $VO_{2max}$  عدم توانایی رت‌ها در ادامه دادن پروتکل تمرینی با افزایش سرعت بود. سرعت  $VO_{2max}$  ثبت شده سرعتی است که در آن  $VO_2$  به فلات برسد. رسیدن به فلات با غلظت لاکتات بیشتر از ۶ میلی‌مول در لیتر و نسبت تنفسی  $VO_2/VCO_2$ ، ۱/۰۵ معادل است. پژوهش‌ها نشان می‌دهند ارتباط قوی بین سرعت نوارگردان و  $VO_{2max}$  رت‌ها وجود دارد (۰/۹۸- $r=0/94$ ،  $P < 0/0005$ ). از این رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن مقدار  $VO_{2max}$  رت‌ها را به دست آورد. بالاترین میزان  $VO_{2max}$  برآورد شده با این روش در شیب ۲۵ درجه نوارگردان حیوانی است (۲۹). تمرینات ورزشی بر اساس تحقیقات قبلی بر روی تریدمیل تنظیم شده است (۲۷، ۲۳). بدین صورت که رت‌ها در نوارگردان برای ۵ روز در هفته به مدت ۶۰ دقیقه و برای ۸ هفته تمرین کردند که شامل سه مرحله است (جدول ۱).

یافت می‌شود (۲۴). تروگزروتین خواص فارماکولوژیکی متنوعی نظیر اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، محافظت-کننده کبدی و آنتی‌ترومبوتیک دارد (۲۵). علاوه بر این، تروگزروتین مدت‌ها برای درمان بعضی بیماری‌های قلبی عروقی استفاده شده است (۲۶).

در خصوص تأثیر ترکیبی ورزش HIIT با TRX به‌عنوان راهکاری مهم در تأثیرگذاری سریعتر در کاهش عوارض احتمالی DOX، در بافت‌های مختلف مطالعه‌ای صورت نگرفته و همچنین مکانیسم‌های تأثیرگذاری این روش ترکیبی نیز هنوز بطور کامل بررسی نشده است و اثراتی هم که از ورزش HIIT در مطالعات مختلف گزارش شده است گاهاً دارای تناقض می‌باشد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر توأم ورزش HIIT و تروگزروتین بر آسیب قلبی و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی در سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین در رت می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### طرح مطالعه

در این طرح، ۵۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی از حیوانکده مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شد و در دمای محیط کنترل شده  $21 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، در چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، با دسترسی آزاد به غذا و آب در حیوان‌خانه نگهداری شد. همه حیوانات به مدت یک هفته با شرایط زندگی در حیوان‌خانه و یک هفته بعدی با نحوه دویدن روی نوارگردان آشنا شدند. موش‌ها در پنج گروه (n=۱۰) برای آزمایش‌ها مربوطه به صورت تصادفی گروه‌بندی شدند. گروه Control (بی‌تحرك-سالین)، گروه DOX، گروه (HIIT+DOX)، گروه (DOX+TRX) و گروه (HIIT+TRX+DOX). تجویز دوکسوروبیسین پس از آخرین تمرین به رت‌ها انجام شد. لازم به ذکر است که تمام روش‌های حیوانی در کمیته اخلاق تحقیقاتی پژوهشگاه علوم ورزشی ایران مورد بررسی قرار گرفته و بر اساس

جدول ۱. پروتکل تمرینی HIIT

۱	۶ دقیقه گرم کردن با شدت ۵۰ الی ۵۵ درصد VO2max
۲	۷ ست پی در پی ۴ دقیقه با ۸۰ الی ۹۰ درصد VO2max که با دوره‌های ۳ دقیقه ای با شدت ۶۵ الی ۷۵ درصد VO2max از هم جدا شده‌اند.
۳	۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۵۰ الی ۵۵ درصد VO2max

(۳۳). برای بررسی ژن های مورد نظر با استفاده از تکنیک Real-Time PCR ابتدا RNA تام سلولی از بافت‌ها به دقت استخراج گردید و پس از حصول اطمینان از سالم بودن RNA، واکنش رونویسی معکوس انجام شده و سپس cDNA تولید شده به عنوان الگو برای انجام واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام PCR کمی بر روی mRNA اقدام به انجام Real time PCR با استفاده از دستگاه Real time PCR Light Cyclor 96 ساخت شرکت Roche گردید، متد مورد استفاده متد کلاسیک سایبرگرین (SYBR Green) بود. این متد بر اساس افزایش خاصیت فلورسانس سایبرگرین در حالت باند شده به مولکول در رشته‌های DNA می‌باشد. مخلوط PCR حاوی پرایمرهای فوروارد و ریورس و ماده سایبرگرین می‌باشد. در صورت افزایش DNA میزان سایبر چسبیده به DNA جدید توسط دستگاه تعیین می‌گردد (۳۴). برای آنالیز داده‌های آماری بدست آمده از مطالعه از روش‌های آماری توصیفی (میانگین  $\pm$  SEM) و جهت مقایسه تغییرات پارامترها در بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار IBM SPSS انجام شد. از آزمون شاپیروویلیک برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها استفاده شد. سپس برای تعیین هر گونه تفاوت بین گروه‌ها، آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید (۰/۰۵ <  $\alpha$ ). برای تمامی روابط P-value محاسبه شده و  $P < 0/05$  معنی دار تلقی شد.

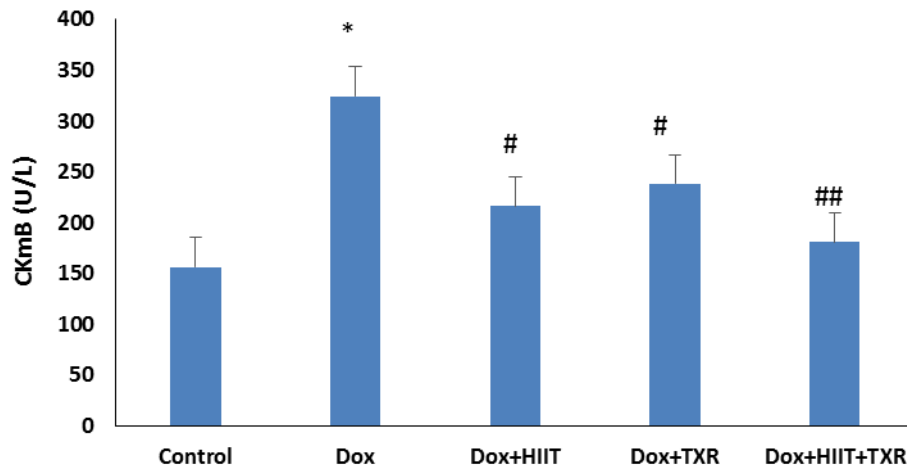
### نتایج

بر طبق نتایج بدست آمده از این تحقیق، همانگونه که در شکل ۱ نشان داده شده است، مصرف DOX باعث افزایش معنی دار سطح آنزیم CKMB در گروه DOX نسبت به گروه کنترل شده است (۰/۰۵ <  $p$ )؛ اما تمرین HIIT قبل از مصرف DOX منجر به کاهش معنی دار در سطح آنزیم

در گروه های دریافت کننده TRX، تروگزروتین با دوز ۱۵۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن حیوان و از طریق گاواژ خوراکی، یک بار در روز به مدت دو ماه تجویز شد (۲۸). در گروه‌های دریافت کننده DOX، شش ساعت پس از آخرین جلسه فعالیت ورزشی HIIT و یا تجویز تروگزروتین، دوکسوروبیسین هیدروکلراید (با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، به صورت داخل صفاقی) به موش‌های بزرگ آزمایشگاهی تزریق شد مدت زمان ایجاد آسیب قلبی توسط این دارو با این غلظت حدود ۴۸ تا ۷۲ ساعت است (۳۰). ۷۲ ساعت بعد از تزریق DOX، حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ میلی-گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. سپس به طور مستقیم از بطن چپ قلب حیوانات خون‌گیری انجام و بلافاصله توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن، سرم از پلاسما جدا گردیده و برای اندازه‌گیری CK-MB و LDH در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد فریز شد. سطوح CKMB و LDH که جزو نشانگرهای آسیب سلولی قلبی هست (۳۱). به کمک اسپکتروفتومتری و تست الیزا با کیت‌های موجود (شرکت Roche) با توجه به دستورالعمل‌های شرکت تولیدکننده نسبت به پروتئین توتال اندازه‌گیری شد. جذب نوری برای آنزیم‌ها در ۳۴۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تشخیص داده می‌شود. نتایج در U/L گزارش شدند (۳۲). قابل ذکر است که پس از خون‌گیری سریع از حیوانات بیهوش شده، قلب به سرعت برداشته شد و بافت بطن چپ قلب از آن جدا گردید. بلافاصله، تمام نمونه‌های بافتی بطن چپ به محلول مهارکننده RNase منتقل شد (ساخت شرکت Qiagen) و تا زمان استخراج RNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. گروه‌های بدون درمان DOX و تروگزروتین نیز مقدار مشابهی از سالی‌ن دریافت کردند

تمرین HIIT نیز قبل از مصرف DOX منجر به کاهش معنی‌دار در سطح آنزیم CK<sub>MB</sub> نسبت به گروه DOX شده است ( $p < 0/01$ ).

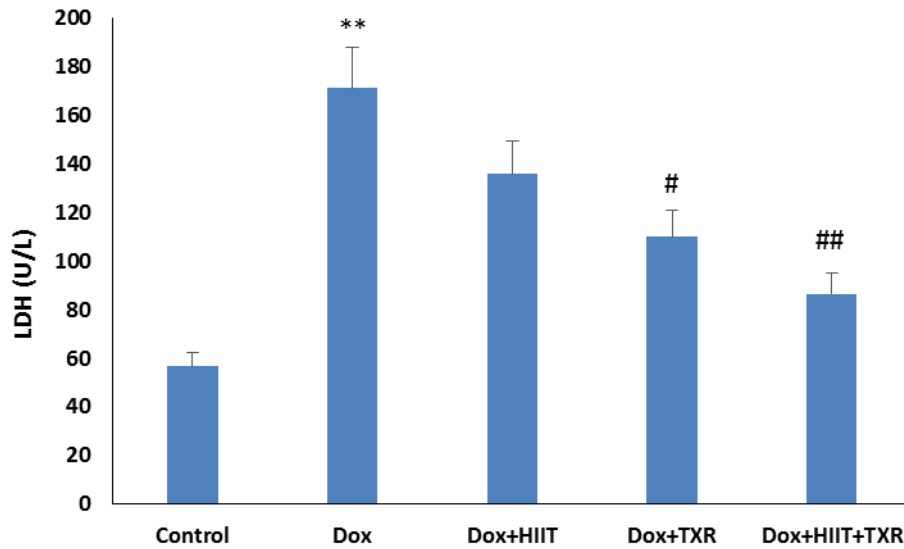
CK<sub>MB</sub> نسبت به گروه DOX شده است ( $p < 0/05$ ). مصرف ترোগزروتین نیز قبل از مصرف DOX منجر به کاهش معنی‌دار در سطح آنزیم CK<sub>MB</sub> نسبت به گروه DOX شده است ( $p < 0/05$ ). مصرف ترোগزروتین توأم با



شکل ۱. سطح آنزیم CK<sub>MB</sub> در قلب رت‌ها در گروه‌های مختلف (مصرف DOX باعث افزایش معنی‌دار سطح آنزیم CK<sub>MB</sub> در گروه DOX نسبت به گروه کنترل شده و مصرف ترোগزروتین توأم با تمرین منجر به کاهش معنی‌دار در سطح آنزیم CK<sub>MB</sub> نسبت به گروه DOX شده است).  
\*اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/05$  نسبت به گروه کنترل، #اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/05$  نسبت به گروه DOX، ## اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/01$  نسبت به گروه DOX

از مصرف DOX منجر به کاهش غیرمعنی‌دار در سطح آنزیم LDH نسبت به گروه DOX شده است. مصرف ترোগزروتین توأم با تمرین HIIT نیز قبل از مصرف DOX منجر به کاهش معنی‌دار در سطح آنزیم LDH نسبت به گروه DOX شده است ( $p < 0/01$ ).

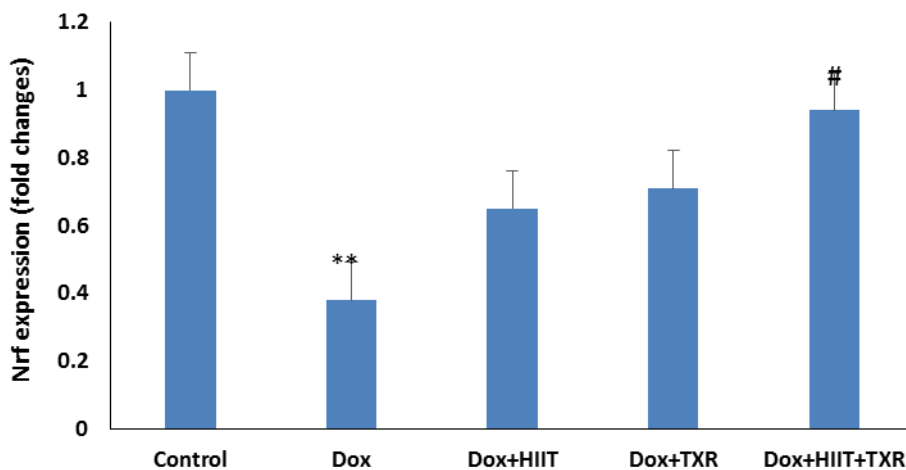
بر طبق نتایج بدست آمده از این تحقیق که در شکل ۲ نشان داده شده است، مصرف DOX باعث افزایش معنی‌دار سطح آنزیم LDH در گروه DOX نسبت به گروه کنترل شده است ( $p < 0/01$ ). مصرف ترোগزروتین قبل از مصرف DOX منجر به کاهش معنی‌دار در سطح آنزیم LDH نسبت به گروه DOX شده است ( $p < 0/05$ ). اما تمرین HIIT قبل



شکل ۲. سطح آنزیم LDH در قلب رت ها در گروه‌های مختلف (مصرف DOX باعث افزایش معنی‌دار سطح آنزیم LDH در گروه DOX نسبت به گروه کنترل شده و مصرف تروگزروتین توأم با تمرین HIIT منجر به کاهش معنی‌دار در سطح آنزیم LDH نسبت به گروه DOX شده است).  
 \*\*:اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/01$  نسبت به گروه کنترل، #:اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/05$  نسبت به گروه DOX، ##: اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/01$  نسبت به گروه DOX

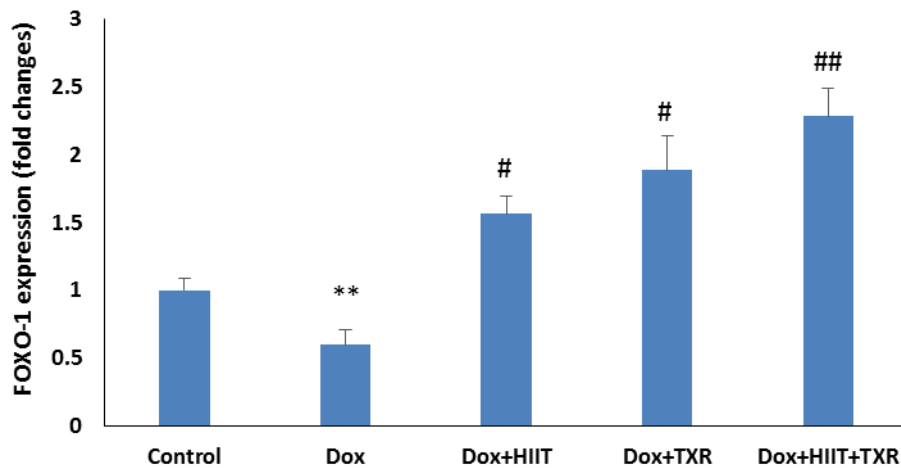
مصرف تروگزروتین قبل از مصرف DOX منجر به افزایش غیرمعنی‌دار در میزان بیان این ژن نسبت به گروه DOX شده است. قابل توجه این است که مصرف تروگزروتین توأم با تمرین HIIT قبل از مصرف DOX منجر به افزایش معنی‌دار میزان بیان ژن Nrf2 نسبت به گروه DOX شده است ( $p < 0/05$ ).

نتایج این تحقیق در خصوص میزان بیان ژن Nrf2، در شکل ۳ نشان داده شده است. بطوریکه مصرف DOX باعث کاهش معنی‌دار میزان بیان ژن Nrf2 در گروه DOX نسبت به گروه کنترل شده است ( $p < 0/01$ )؛ اما تمرین HIIT قبل از مصرف DOX منجر به افزایش غیرمعنی‌دار میزان بیان ژن Nrf2 نسبت به گروه DOX شده است و نیز



شکل ۳. میزان بیان ژن Nrf2 در قلب رت ها در گروه‌های مختلف (مصرف DOX باعث کاهش معنی‌دار میزان بیان ژن Nrf2 نسبت به گروه کنترل و مصرف تروگزروتین توأم با تمرین HIIT منجر به افزایش معنی‌دار میزان بیان ژن Nrf2 نسبت به گروه DOX شده است).  
 \*\*:اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/01$  نسبت به گروه کنترل، #:اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/05$  نسبت به گروه DOX

نتایج این تحقیق در خصوص میزان بیان ژن Foxo1، در شکل ۴ نشان داده شده است. بطوریکه مصرف DOX باعث کاهش معنی‌دار میزان بیان ژن Foxo1 در گروه DOX نسبت به گروه کنترل شده است ( $p < 0/01$ )؛ اما تمرین HIIT قبل از مصرف DOX منجر به افزایش معنی‌دار میزان بیان ژن Foxo1 نسبت به گروه DOX شده است ( $p < 0/01$ ).



شکل ۴. میزان بیان ژن Foxo1 در قلب رت‌ها در گروه‌های مختلف (مصرف DOX باعث کاهش معنی‌دار میزان بیان ژن Foxo1 نسبت به گروه کنترل و مصرف ترگوکروتین توأم با تمرین HIIT منجر به افزایش معنی‌دار میزان بیان ژن Foxo1 نسبت به گروه DOX شده است).  
 \*\*:اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/01$  نسبت به گروه کنترل، #:اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/05$  نسبت به گروه DOX، ##:اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/01$  نسبت به گروه DOX

کرده‌اند که HIIT قبل و در حین درمان با DOX می‌تواند از طریق افزایش مقادیر آنتی‌اکسیدانی در بافت قلبی از عوارض جانبی قلبی ناشی از DOX بکاهد (۱۸). اخیراً ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۹) به این نتیجه رسیدند که تمرین HIIT از طریق کاهش بیومارکرهاى آسیب قلبی در پلاسما (CK<sub>MB</sub> و LDH) از قلب در برابر سمیت قلبی ناشی از DOX محافظت می‌کند (۲۳). این یافته‌ها با نتایج ما که هشت هفته تمرین HIIT قبل از درمان با DOX باعث کاهش سطوح CK<sub>MB</sub> گردید همسو می‌باشد. میتوکندری، ۲۵ تا ۳۵ درصد حجم سلول ماهیچه قلبی را شامل می‌شود، اعتقاد بر این است که جزء هدف‌های اولیه در سمیت قلبی DOX است (۳۵).

افزایش تولید ROS توسط DOX، سازمان آنتی‌اکسیدانی را به خطر می‌اندازد و به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای

در این مطالعه، به این نتیجه رسیدیم که تزریق دوکسوروبیسین در رت‌ها باعث افزایش سطح CK<sub>MB</sub> و LDH سرم، کاهش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی میتوکندری در سلول‌های قلبی می‌گردد با وجود این، نشان داده شد که انجام تمرین HIIT و نیز مصرف ترگوکروتین، دو ماه قبل از تزریق DOX، مانع از افزایش سطح CK<sub>MB</sub> و LDH سرم و آسیب قلبی شده و نیز مانع کاهش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی میتوکندری می‌شود؛ و مهمتر اینکه تأثیر توأم تمرین HIIT و ترگوکروتین بیشتر از تأثیر هر یک از آنها به‌تنهایی بود. نتایج این تحقیق با تحقیقاتی که گزارش کرده‌اند مصرف DOX منجر به سمیت قلبی از طریق افزایش بیومارکرهاى آسیب قلبی در رت‌ها می‌شود همسو می‌باشد (۲۷، ۲۳، ۲۹). جارت و همکاران (۲۰۱۶) بیان

## بحث

۸۶



آئورت رت‌های دیابتی همراه بوده است (۴۱). نتایج تحقیق ما همسو با این تحقیقات، کاهش آسیب قلبی ناشی از دوکسوروبیسین و افزایش بیات ژن‌های آنتی‌اکسیدانی در میتوکندری سلول‌های قلبی رت‌ها را با مصرف تروگزروتین نشان داد.

در این مطالعه، ترکیب رژیم ورزشی HIIT و تجویز تروگزروتین به عنوان یک پروتکل پیشگیری برای مقابله با سمیت قلبی DOX استفاده شد. در بالین، بیمارانی که در مراحل اولیه تشخیص سرطان هستند و هنوز می‌توانند این نوع ورزش را قبل از شروع درمان با DOX تحمل کنند، می‌توانند از تأثیرات مثبت HIIT به همراه تروگزروتین بهره مند شوند. با این حال، هنوز مشخص نیست که آیا تجویز همزمان HIIT یا تروگزروتین در طی دوره‌های درمان با DOX نیز در بیماران سرطانی دریافت‌کننده DOX محافظتی دارد. بسیاری از مطالعات بالینی گزارش داده‌اند که ورزش منظم هوازی که قبل، حین یا بعد از درمان با DOX انجام شده است، توانسته است سمیت قلبی DOX را کاهش دهد و بنابراین، به نظر می‌رسد با بهینه‌سازی شدت، زمان و مدت زمان رژیم ورزشی HIIT برای هر بیمار، قابلیت ترجمه پذیری تجویز همزمان آن با تروگزروتین در برنامه درمان گروه خاصی از بیماران قابل دستیابی است. مطالعات تکمیلی می‌تواند برای نتیجه‌گیری بهتر در این زمینه مفید باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد تأثیر توأم تمرین HIIT و تروگزروتین در پیشگیری از سمیت قلبی و افزایش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی میتوکندری در سلول‌های بطن چپ رت‌ها، بیشتر از تأثیر هر یک از آنها به‌تنهایی بود. بنابراین ورزش HIIT می‌تواند به‌عنوان یک روش پیش‌درمانی غیر دارویی مناسب در کاهش سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین باشد ولی به نظر می‌رسد که تأثیر توأم تروگزروتین و ورزش HIIT باعث کاهش بیشتر سمیت قلبی و افزایش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی میتوکندری‌های قلبی در رت‌ها می‌شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل قسمتی از رساله دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران است. نویسندگان این

نوکلئوتیک آسیب می‌زند (۳۶). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بهبود- یافته سلول‌های عضله قلبی ممکن است از آسیب ناشی از ROS مرتبط با درمان دوکسوروبیسین جلوگیری کند (۱۵). در مقایسه با حیوانات تمرین نکرده، چوندگانی که تمرین هوازی انجام داده‌اند سطوح بالاتری از فعالیت آنتی-اکسیدانی را دارا هستند و سطوح مارکرهای استرسی اکسیداتیو ناشی از در معرض دوکسوروبیسین بودن کاهش می‌یابد (۳۲ و ۳۷). گزارش شده است که تمرین HIIT پس از نارسایی قلبی می‌تواند عملکرد قلبی را بوسیله مهار تغییرات ناشی از دوکسوروبیسین در دینامیک و بیوژنز میتوکندری، محتوی آنتی‌اکسیدانی و مسیرهای پیام‌رسانی AMPK و ERK1/2-JNK-P53 بهبود بخشد (۳۸). ونگ و دیگران نشان دادند که تمرین HIIT باعث بیش تنظیمی متابولیسم انرژی سلول‌های عضله قلبی و بنابراین بهبود تولید انرژی در بیماران دارای نارسایی قلبی مزمن می‌شود (۳۹). آنتی‌اکسیدان‌ها، دینامیک میتوکندری، بیوژنز میتوکندری و مسیرهای پیام‌رسانی AMPK می‌تواند به‌عنوان مکانیسم‌های مولکولی احتمالی محافظت تمرین HIIT در سلول‌های عضله قلبی در برابر سمیت ناشی از دوکسوروبیسین باشد (۲۳). نتیجه تحقیق ما، بطور همسو با این تحقیقات، تأثیر مثبت تمرین HIIT را در کاهش آسیب قلبی ناشی از دوکسوروبیسین و افزایش بیات ژن‌های آنتی-اکسیدانی در میتوکندری سلول‌های قلبی نشان داد.

تروگزروتین مدت‌ها برای درمان بعضی بیماری‌های قلبی-عروقی استفاده شده است (۲۶). حیدرزاده و همکاران (۱۳۹۴)، در مطالعه‌ای تأثیر تروگزروتین را بر روی مارکر آسیب بافتی (کراتین‌کیناز)، بررسی کردند. نتایج حاکی از اثر محافظتی تروگزروتین بوده است. این تأثیر محافظتی ممکن است به خاصیت آنتی‌اکسیدانی تروگزروتین و نیز توانایی این بیوفلاونوئید در پاکسازی و مهار تولید رادیکال‌های آزاد نسبت داده شود (۴۰). بدل‌زاده و همکاران (۲۰۱۵)، در بررسی تأثیر مصرف تروگزروتین بر روی آسیب‌های بافت آئورت در رت‌های دیابتی، نتیجه گرفتند که درمان با تروگزروتین آسیب‌های پاتولوژیک آئورت ناشی از دیابت را کاهش داد و این اثر تروگزروتین با افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پر اکسیداسیون لیپیدی (محتوی مالون‌دی‌آلدئید) در بافت

### تضاد منافع

مؤلفین اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند. این مقاله توسط تمام نویسندگان خوانده شده و مورد قبول قرار گرفته است.

مقاله نهایت تشکر و قدردانی خود را از زحمات کارکنان مرکز تحقیقات دارویی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز جهت کمک در انجام آزمایش‌ها و سنجش‌های این تحقیق ابراز می‌دارند.

### منابع

1. Tauan Nunes Maia, Gustavo Bento Ribeiro de Araujo, José Antônio Caldas Teixeira, Edmundo de Drummond, Alves Junior, Kátia Pedreira Dias. Cardiotoxicity of Doxorubicin Treatment and Physical Activity: A Systematic Review. *Int J Cardiovascular Sciences* 2017; 30(1):70-80. DOI: 10.5935/2359-4802.20170004
2. Li M, Xiongzh G. Ion channels as targets for cancer therapy. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2011; 3(2):156-166. PMID: PMC3134009
3. Dolinsky VW, Rogan KJ, Sung MM, Zordoky BN, Haykowsky MJ, Young ME, et al. Both aerobic exercise and resveratrol supplementation attenuate doxorubicin-induced cardiac injury in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;305:E243-253. DOI: org/10.1152/ajpendo.00044.2013
4. Ahmet I, Sawa Y, Iwata K, Matsuda H. Gene transfection of hepatocyte growth factor attenuates cardiac remodeling in the canine heart: A novel gene therapy for cardiomyopathy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124(5):957-63. DOI: org/10.1067/mtc.2002.126655
5. Koleini N and Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncotarget* 2017;8 (28):46663-46680. DOI: 10.18632/oncotarget.16944
6. Singal P, Kumar D, Danelisen I, Iliskovic N. Adriamycin-induced heart failure: mechanisms and modulation. *Mol Cell Biochem* 2000;207(1-2):77-86. DOI: 10.1023/a:1007094214460
7. Parra V, Eisner V, Chiong M, Criollo A, Moraga F, Garcia A, et al. Changes in mitochondrial dynamics during ceramide-induced cardiomyocyte early apoptosis. *Cardiovasc Res* 2008;77:387-397. DOI: 10.1093/cvr/cvm029
8. Wu S, Zhou F, Zhang Z, Xing D. Mitochondrial oxidative stress causes mitochondrial fragmentation via differential modulation of mitochondrial fission-fusion proteins. *FEBS j* 2011;278(6):941-54. DOI: 10.1111/febs.1742-4658.2011.08010.x
9. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: A retrospective analysis of three trials. *Cancer* 2003; 97(11):2869-79. doi:10.1002/cncr.11407. DOI: 10.1002/cncr.11407
10. Elwia S, Elnoury H, Muhammad M. Forskolin Effect on FOXO1 Expression and Relationship of FOXO1 Activation to Oxidative Stress: From Molecular to Therapeutic Strategy. *Biomarkers J* ISSN 2018;4(2:11):2472-1646. DOI: 10.21767/2472-1646.100049
11. Narasimhan M, Rajasekaran N. Exercise, Nrf2 and Antioxidant Signaling in Cardiac Aging. *Front Physiol* 2016; 7:241. doi: 10.3389/fphys.2016.00241
12. Kavazis AN, Smuder AJ, Powers SK. Effects of short-term endurance exercise training on acute doxorubicin-induced FoxO transcription in cardiac and skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 2014;117(3):223-30. doi: 10.1152/jappphysiol.00210.2014
13. Starnes J. W. and R. P Taylor. Exercise-induced cardioprotection: endogenous mechanisms. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 2007;39(9): 1537-1543. DOI: 10.1249/mss.0b013e3180d099d4
14. Kavazis A, McClung J, Hood D and Powers S. Exercise induces a cardiac mitochondrial phenotype that resists apoptotic stimuli. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory*

- Physiology 2008;294(2): H928-935.  
DOI: 10.1152/ajpheart.01231.2007
15. Ascensao A, Ferreira PJ Oliveira and Magalhaes J. Effects of endurance training and acute Doxorubicin treatment on rat heart mitochondrial alterations induced by in vitro anoxia-reoxygenation. *Cardiovascular Toxicology* 2006;6(3-4):159-172. DOI: 10.1385/ct:6:3:159
  16. Lehman JJ, Barger PM, Kovacs A, Saffitz JE, Medeiros DM, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis. *Journal of Clinical Investigation* 2000; Oct;106(7):847-56.  
DOI: 10.1172/JCI10268
  17. Guiraud T, Nigam A, Gremeaux V, Meyer P, Juneau M, Bosquet L. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. *Sports Medicine* 2012; 42(7):587-605.  
DOI: 10.2165/11631910-000000000-00000
  18. Jarrett CL, D'Lugos AC, Mahmood TN, Gonzales RJ, Hale TM, Carroll CC, et al(2016). Effect of high intensity exercise preconditioning and training on antioxidant enzymes in cardiomyocytes during doxorubicin treatment. *FASEB Journal* 2016;30(1\_supplement):lb601.  
DOI: 10.1096/fasebj.30.1\_supplement.lb601
  19. Ebrahimi Kh, Choobineh S, Badalzadeh R, Soori R. Protective Effect of Aerobic High-Intensity Interval Training Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats. *Journal of Knowledge & Health* 2018;13(1).  
DOI: 10.22100/jkh.v13i3.2040. (Persian)
  20. Zhou S, Starkov A, Froberg MK, Leino RL and Wallace KB. Cumulative and Irreversible Cardiac Mitochondrial Dysfunction Induced by Doxorubicin. *Cancer Research* 2001;61(2):771-777.  
DOI: Published January 2001
  21. whiteside H, Nagabandi A, Jyothidasan A, Brown K, Thornton J. Acute anthracycline induced cardiotoxicity: A rare and reversible cause of acute systolic heart failure. *Journals of the American College of Cardiology* 2018;71(11):A2356.  
DOI:10.1016/50735-1097(18)32897-3.
  22. Shirinbayan V and Roshan VD. Pretreatment effect of running exercise on HSP70 and DOXinduced cardiotoxicity. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2012;13:5849-5855.  
DOI: 10.7314/apjcp.2012.13.11.5849
  23. Ebrahimi KH, Choobineh S, Soori R and Badalzadeh R. Cardioprotective Effect of High-Intensity Aerobic Interval Training against Adriamycin-Induced Cardiac Toxicity in Rats. *Journal of Clinical Research in Paramedical Science* 2019;8(1):e83850. Published online 2019 March 17. DOI: 10.5812/jcrps.83850.
  24. Geetha R, Yogalakshmi B, Sreeja S, Bhavani K, Anuradha CV. Troxerutin suppresses lipid abnormalities in the heart of high-fat-high-fructose diet-fed mice. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2014;387(1-2):123-34. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11010-013-1877-2>
  25. Subastri A, Ramamurthy CH, Suyavaran A, Mareeswaran R, Lokeswara Rao P, Harikrishna M, et al. Spectroscopic and molecular docking studies on the interaction of troxerutin with DNA. *International Journal of Biological Macromolecules* 2015;78:122-9.  
DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.03.036
  26. Gohel MS, Davies AH. Pharmacological agents in the treatment of venous disease: an update of the available evidence. *Current Vascular Pharmacology* 2009;7(3):303-308.  
DOI: 10.2174/157016109788340758
  27. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim M, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovascular Research* 2009;81(4):723-32.  
DOI: 10.1093/cvr/cvn332
  28. Babri S, Amani M, Mohaddes G, Alihemmati A, Ebrahimi H. Protective effects of troxerutin on  $\beta$ -amyloid (1-42)-induced impairments of spatial learning and memory in rats. *NeuroPathy* 2012;44(5):387-93.  
doi: 10.22038/IJBMS.2018.28170.6901
  29. Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: Practical

- implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation* 2007;14(6):753–60. DOI: 10.1097/HJR.0b013e3281eacef1
30. Ascensão A, Magalhães J, Soares JM, Ferreira R, Neuparth MJ, Marques F, Duarte JA. Moderate endurance training prevents doxorubicin-induced in vivo mitochondrial pathology and reduces the development of cardiac apoptosis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2005;289(2):722-731. DOI: 10.1152/ajpheart.01249.2004
  31. Kemp M, Donovan J, Higham H, Hooper J. Biochemical markers of myocardial injury. *British Journal of Anaesthesia* 2004;93(1):63-73. DOI.org/10.1093/bja/ae148
  32. Badalzadeh R, Azimi A, Alihemmati A, Yousefi B. Chronic type-I diabetes could not impede the anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of combined postconditioning with ischemia and cyclosporine A in myocardial reperfusion injury. *Journal of Physiology and Biochemistry* 2017;73:111–120. DOI: 10.1007/s13105-016-0530-4
  33. Asadi M, Shanehbandi D, Mohammadpour H, Hashemzadeh S, Sepehri B. Expression Level of miR-34a in Tumor Tissue from Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Gastroenterology* 2018; 1-4. DOI: 10.1007/s12029-018-0060-0
  34. Yavari R, Badalzadeh R, Alipour M, Tabatabae S M. Modulation of hippocampal gene expression of microRNA-146a/microRNA-155-nuclear factor-kappa B inflammatory signaling by troxerutin in healthy and diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology* 2016; 48(6): 675–680. DOI: 10.4103/0253-7613.194847
  35. Félix DNM. Effects of voluntary physical activity and endurance training on cardiac mitochondrial function of rats sub-chronically treated with doxorubicin [dissertation]. University of Porto; 2013.
  36. Marques-Alexio. Chronic exercise mitigates Doxorubicin-induced cardiac and brain mitochondrial activity, oxidative stress, apoptotic signaling, mitochondrial dynamics and quality control. Tese de Doutorado em Atividade Física e Saúde. Centro de investigação em Atividade Física, Saúde e Lazer. Faculdade de Desporto. Universidade do porto 2014.
  37. Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Mariani D, Rizo-Roca D, Padrão AI, RochaRodrigues S, et al. Physical exercise prior and during treatment reduces subchronic doxorubicin-induced mitochondrial toxicity and oxidative stress. *Mitochondrion* 2015;20:22–33. DOI: 10.1016/j.mito.2014.10.008
  38. Jiang HK, Miao Y, Wang YH, Zhao M, Feng ZH, Yu XJ, et al. Aerobic interval training protects against myocardial infarction-induced oxidative injury by enhancing antioxidant system and mitochondrial biosynthesis. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2014; 41(3):192-201. DOI: 10.1111/1440-1681.12211
  39. Wang L, Gao K, Wang D. Exercise training has restorative potential on myocardial energy metabolism in rats with chronic heart failure. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2018; 21(8):818–23. doi: 10.22038/IJBMS.2018.29294.7076. DOI: 10.22038/IJBMS.2018.29294.7076
  40. Heidarzadeh F, Badalzadeh R and Hatami H. The effect of troxerutin on lipid peroxidation and tissue injury induced by myocardial ischemia reperfusion injury in diabetic rat. *Razi Journal of Medical Sciences* 2014;21(125):37-45. (Persian)
  41. Badalzadeh R, Layeghzadeh N, Alihemmati A, Mohammadi M. Beneficial Effect of Troxerutin on Diabetes-Induced Vascular Damages in Rat Aorta: Histopathological Alterations and Antioxidation Mechanism. *International Journal of Endocrinology and Metabolism* 2015;13(2):e25969. DOI: 10.5812/ijem.25969