مجله دیابت و متابولیسم ایران. مرداد و شهریور ۱۴۰۲؛ دوره ۲۳ (شماره ۳) ۱۵۰-۱۳۷

مقاله پژوهشی

تغییرات آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و آنتی‌اکسیدان بافت کبد متعاقب تمرین هوازی و مصرف عصارۀ آناناس در موش‌های مبتلا به سرطان پوست

علیرضا زندی نژاد[۱]، حسین عابدنطنزی*[۱]، فرشاد غزالیان[۱]، علیرضا براری[۲]

چکیده

مقدمه: هدف پژوهش حاضر مطالعۀ تغییرات بیان ژن Cox-1 و Cox-2 بافت کبد و حجم تومور پس از انجام تمرین هوازی و مصرف عصارۀ آناناس در موش‌های مبتلا به سرطان پوست بود.

روش‌ها: این مطالعۀ بنیادی- آزمایشگاهی بر روی ۳۲ سر موش‌های نر نژاد C57BL/6 در چهار گروه شامل کنترل، تمرین هوازی، عصارۀ آناناس و تمرین هوازی- آناناس انجام شد. حیوانات پس از القای تومور، برنامۀ تمرین هوازی به‌مدت شش هفته انجام شد و عصارۀ آناناس به میزان ۳۰۰ mg/kg گاواژ شد. وزن و حجم تومور موش‌ها اندازه‌گیری شد. پس از تهیۀ خون و نمونه‌های بافتی، بیان ژن Cox-1 و Cox-2 بافت کبد به روش RT-PCR انجام گرفت. سپس داده‌ها با استفاده آنالیز واریانس یک‌طرفه، آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند و سطح معنی‌داری P≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: براساس نتایج مطالعه در گروه تمرین هوازی و تمرین- آناناس کاهش معنی‌دار حجم تومور و کاهش بیان ژن Cox-1 (۰/۵۹±۰/۹۷) و Cox-2 (۰/۵±۰/٤) بافت کبدی و در گروه تجربی تعاملی تمرین- آناناس نسبت به کنترل (۱±۰) مشاهده شد (P≤ ۰/۰۵). بیان ژن Cox 1 در گروه تمرین هوازی افزایش معنی‌دار داشت ولی در گروه تمرین- آناناس کاهش معنی‌دار مشاهده شد. همچنین بیان ژن Cox 2 بافت کبد در گروه تمرین هوازی و گروه تجربی تعاملی تمرین- آناناس نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری داشت ولی در گروه آناناس نسبت به کنترل تفاوت بیان این ژن معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیان ژن Cox 1 در گروه تمرین هوازی افزایش معنی‌دار و در گروه تمرین- آناناس کاهش معنی‌دار مشاهده شد. بیان ژن Cox 2 بافت کبد در گروه تمرین هوازی و گروه تعاملی تمرین- آناناس نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری داشت از آنجا که آنزیم Cox-2 با التهاب و درد، رگ‌زایی، سرطان و بیماری آلزایمر ارتباط دارد کند. بنابراین می توان نتیجه گرفت مهار و یا کاهش آن به‌عنوان یک راهبرد امیدبخش و مؤثر برای درمان و جلوگیری از سرطان می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، آناناس، سرطان ملانوما، Cox-1، Cox-2

۱- گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

***نشانی:** تهران، انتهای بزرگراه شهید ستاری، میدان دانشگاه، بلوار شهدای حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات، دانشکده‌ی علوم انسانی و اجتماعی، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، تلفن: ۰۹۱۲٦۱۰۷۰٦٤، کُدپستی: ۱٤۷۷۸۹۳۸۵۵ صندوق پستی: ۷۷۵/۱٤۵۱۵، پست الکترونیک:abednazari@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۵ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۴۰۲/۰۴/۱۳ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۴/۱۴

مقدمه

سرطان عامل اصلی مرگ‌ومیر در سراسر جهان و کشورها است. علاوه بر این، انتظار می‌رود که تعداد موارد سرطان و مرگ‌ومیر با رشد جمعیت، پیر شدن و اتخاذ رفتارهای سبک زندگی که خطر ابتلا به سرطان را افزایش می‌دهد، به‌سرعت افزایش یابد [۱]. ملانوما یک سرطان پوست است که در اثر بدخیمی ملانوسیت‌ها ایجاد می‌شود و بروز آن در سراسر جهان به‌سرعت در حال افزایش است که منجر به مشکلات فراوان می‌شود [۲]. مطالعات نشان داده سیکلواکسیژنازها (Cox) با التهاب، درد و سرطان و آلزایمر و مرتبط است. آنزیم سیکلواکسیژناز (Cox)، آنزیم کلیدی در تبدیل اسید آراشیدونیک به پروستاگلاندین‌ها است. در پستانداران دو ایزوفرم از این آنزیم، به نام‌های Cox-1 و Cox-2 با ژن‌های مستقل و الگوی بیان متفاوت وجود دارد. آنزیم Cox-1 در اکثر بافت‌ها به‌طور پیوسته بیان می‌شود، درحالی‌که Cox-2 به‌عنوان جزئی از واکنش‌های التهابی در پاسخ به تحریکات خارج سلولی سریعاً القاء می‌گردد و میزان آن در اغلب بافت‌های طبیعی غیرقابل سنجش است. به‌علاوه Cox-2 نقش مهمی در تنظیم تکثیر سلولی، تمایززدایی و سرطان‌زایی ایفاء می‌کند. در واقع Cox-2 با التهاب، درد، رگزایی و سرطان ارتباط دارد. مطالعات زیادی افزایش میزان Cox- 2 در سلول‌های ترانسفرم شده و اشکال مختلف سرطان را نشان داده‌اند. بنابراین مهار Cox-2 به‌عنوان یک راهبرد امیدبخش و مؤثر برای درمان و جلوگیری از سرطان مورد توجه قرار گرفته است. آنزیم Cox-2 باعث تولید پروستاگلاندین‌هایی می‌شود که در عملکردهای فیزیولوژیکی طبیعی مثل نگه‌داری موکوس معده و تنظیم جریان خون کلیوی دخیل هستند. درحالی‌که Cox-2 ساخت پروستاگلاندین‌ها را در بافت‌های نئوپلاستیک و التهابی افزایش می‌دهد و در ساخت پروستاگلاندین‌های مرتبط با درد و تب نقش دارد [۳]. مطالعات بالینی و اپیدمیولوژیکی حاکی از کاهش خطر ایجاد تومورهای بدخیم مثل سرطان کولون در اثر مصرف منظم داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی مثل آسپرین و سالیندک هستند. بنابراین مهار Cox-2 به‌عنوان یک راهبرد امیدبخش و مؤثر برای درمان و جلوگیری از سرطان مورد توجه قرار گرفته است [٤]. از طرفی دیگر، سمیت گونه‌های از ROS (Reactive Oxygen Species) اکسیژن فعال عوامل اصلی دخیل در سرطان، پیری، بیماری‌های قلبی، آسیب‌های سلولی کبد و سایر اندام‌ها است. یکی از مهم‌ترین سازکارهای آنتی اکیدانی بدن در برابر حمله گونه‌های فعال اکسیژن، حضور و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) است. آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز آنزیم‌هایی هستند که واکنش تبدیل آنیون سوپراکسید O۲- به اکسیژن و پراکسید هیدروژن را کاتالیز می‌کنند. مطالعات نشان دهندهٔ افزایش سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در خون بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد طبیعی است. به‌عبارتی گونه‌های فعال سبب افزایش بیان عناصر مسئول آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه افزایش آنزیم‌های SOD و GPX می‌شود. افزایش SOD نشان از افزایش رادیکال سوپراکسید آنیون در سرطان پستان است [۵].

پوست در معرض عوامل متعددی از جمله دود، میکروارگانیسم‌ها و یا اشعهٔ ماوراءبنفش که می‌توانند باعث ایجاد پاسخ‌های بیولوژیکی شده و از طریق تولید گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) منجر به آسیب پوست شوند [٦]. در مقابل این عوامل، آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که به مهار بسیاری از واکنش‌های اکسیداسیون که توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند، کمک نموده و بدین‌وسیله آسیب وارده به سلول‌ها و بافت‌ها را مهار کرده یا به تأخیر می‌اندازند. از جمله سازکارهای عملکردی آنها واکنش جمع‌آوری گونه‌ای رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن است [۷]. شواهد گسترده‌ای برای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در سرطان وجود دارد [۸]. ارزش پتانسیلی آنتی‌اکسیدان‌ها، محققان را بر آن داشته تا به جستجوی ترکیب‌های طبیعی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و سمیت کم بپردازند. مطالعات اخیر نشان داده که تعدادی از محصولات گیاهی شامل: پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، کورکومین‌ها، ترپن‌ها و انواع عصاره‌های گیاهی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند. همچنین نشان داده شده که یک سری از ترکیبات طبیعی از جمله گیاهان باعث القاء مسیرهای آپوپتوزی می‌شوند که در سلول‌های سرطان مهار شده‌اند. توانایی القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و توقف تکثیر این سلول‌ها موضوع بسیاری از تحقیقات ایمونوفارماکولوژی است. از

جمله علل اصلی بروز سرطان‌ها می‌توان به تأثیر عوامل محیطی در ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی مسئول بروز بدخیمی‌ها اشاره کرد. فرآورده‌های طبیعی به‌ویژه گیاهان دارای پتانسیل بالایی برای ساخت ترکیبات دارویی هستند [۹]. آناناس با نام علمی comosus Ananas و نام انگلیسی pineapple متعلق به خانوادهٔ برومولیاسه و زیرخانوادهٔ برومولویده است. این میوه یکی از پُر طرفدارترین میوه‌های استوایی است. از نظر ترکیبات شیمیایی در هر صد گرم قسمت قابل مصرف میوهٔ رسیده و خام به‌صورت متوسط: ۸۵ گرم آب، ۰/٤ گرم پروتئین، ۰/۲ گرم چربی، ۱۳ گرم مواد قندی، ۱۷ میلی‌گرم کلسیم، ۸ میلی‌گرم فسفر، ۰/۵ میلی‌گرم آهن، ۱ میلی‌گرم سدیم، ۱٤٦ میلی‌گرم پتاسیم، ۰/۰۹ میلی‌گرم تیامین، ۰/۰۳ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۰/۰۲ میلی‌گرم نیاسین، آنزیم برومیلین، وانیلین، اسیدهای آزاد آلی، ۱۷ میلی‌گرم ویتامین C، ۷۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، B و B2 وجود دارد. آنزیم برومیلین به‌دست آمده از عصارهٔ آناناس به‌صورت گسترده در طب سنتی استفاده می‌شود این ماده علاوه بر این موارد، دارای فعالیت‌هایی نظیر تنظیم کنندهٔ سیستم ایمنی، اثرات ضد التهابی و اثرات ضد سرطانی است [۱۰]. Raeisi و همکاران در سال ۱۳۹۵، اثرات ضدسرطانی آناناس را بر سرطان پستان بررسی نموده و به نتایج ارزشمندی در راستای نابودی این سلول‌ها دست یافتند [۱۱]. با توجه به قابلیت‌های برومیلین و تعداد اندک مطالعات انجام شده پیرامون سلول‌های سرطانی، هنوز مطالعات بیشتری لازم است تا بتوان قابلیت‌های این ترکیب را بررسی کرد. از اصلی‌ترین مشکلاتی که در درمان سرطان وجود دارد این است که داروهای درمانی در بافت‌های توموری باقی نمی‌مانند و داروها بافت‌های سالم بدن را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند [۱۲] درمان‌های مختلفی که امروزه برای سرطان وجود دارد مثل پرتودرمانی و یا سایر داروهای رایج، همگی برای سلول‌های سالم بدن نیز سمی هستند و علاوه بر هزینه‌های بالا، عوارض جانبی بالایی دارند. بنابراین نیاز مبرمی به روش‌های جدید برای درمان سرطان به‌عنوان روش‌های درمانی هدفمند سرطان وجود دارد که بتواند جایگزین خوبی برای روش‌های شیمی درمانی فعلی باشد [۱٤، ۱۳].

بنابراین در این مطالعه در نظر است تمرین هوازی و مصرف عصارهٔ آناناس بر بیان ژن Cox 1 و Cox 2 بافت کبد و حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما بررسی گردد تا شاید بتوان از اثر بخشی و نقش آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آناناس در کنار طراحی برنامهٔ ورزشی برای بیماران مبتلا به سرطان استفاده کرد. لذا محقق به‌دنبال این سؤال هست که آیا تأثیر تعاملی تمرین هوازی و عصارهٔ آناناس بر تغییرات ژنی سیکلواکسیژنازها معنی‌دار است؟ امید است نتایج حاصل از این پژوهش در علوم پزشکی و ورزشی پس از مطالعات انسانی مشابه در بهبود عوارض ناشی از سرطان عوارض آن و آسیب‌های کبدی مورد استفاده قرار گیرد.

روش‌ها

جامعهٔ آماری پژوهش حاضر را موش‌های نر C57BL/6 تشکیل دادند که از بین آنها، ۳۲ سر موش نر شش تا هشت هفته‌ای با دامنهٔ وزنی۱۲ تا ۱٤ گرم که با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شد و در هنگام خرید در همین محدودهٔ وزنی بودند به‌عنوان نمونهٔ آماری از انستیتو پاستور خریداری و به اتاق نگه‌داری حیوانات آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله تهران منتقل شدند. موش‌ها به‌صورت تصادفی و تعداد مساوی شامل هشت سر موش در هر گروه قرار گرفتند.

میوهٔ آناناس تهیه شده و پس از شسته شدن به حلقه‌های نازک برش زده شد و در مکان سایه روشن به دور از آلودگی خشک شد. سپس از میوهٔ خشک شده، پودر یک‌نواخت تهیه می‌گردد. جهت عصاره‌گیری میوهٔ آناناس از روش خیساندن در دمای ٤ درجهٔ سانتیگراد استفاده می‌شود. به ازای هر ۷ گرم پودر آناناس، ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۵٪ استفاده شد. عصارهٔ حاصله در بن‌ماری ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شده تا حلال به‌طور کامل تبخیر می‌شود. عصارهٔ خشک به‌دست آمده تا زمان استفاده، درون یخچال نگه‌داری می‌شود. به‌طور خلاصه پس از توزین میوهٔ آناناس، پوست آن جدا، پارانشیم آن خارج شده و با استفاده از دستگاه مخلوط کن، مخلوط یکنواخت و همگنی تهیه شده، پس از سانتریفوژ مخلوط با سرعت ٤۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه، فیبره در قسمت پایینی و عصاره در قسمت بالایی لوله قرار می‌گیرد. این عصاره با آب مقطر رقیق شده و عصارهٔ ۲۰ درصد مورد استفاده قرار خواهد گرفت. نرمال سالین و عصارهٔ آناناس (۳۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در

وزن بدن) به‌وسیلهٔ گاواژ به موش‌های مورد نظر خورانده خواهد شد [۱۰].

ردهٔ سلول سرطانی ملانوما B16F10 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد. برای کشت این رده سلولی، از محیط کشت RPMI غنی شده با FBS ۱۰٪ همراه با آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین استرپتومایسین استفاده شد. در ابتدا به منظور استخراج بافت توموری از موش‌های استوک، با روش نخاعی موش‌ها کشته شدند. سپس ناحیهٔ توموری با الکل استریل شد و با کمک پنس و قیچی تومور از پهلوی موش خارج و به یک پلیت حاوی محلول سرم فیزیولوژی استریل منتقل گردید. بافت توموری حاصله با یک تیغ بیستوری به قطعات ۲-۳ میلی‌متری تقسیم شد. در حین قطعه کردن بافت توموری چربی‌ها و عروق اضافه از تومور جداسازی شده و بافت توموری به‌صورت خالص قطعه‌قطعه شد. قطعات توموری به یک پلیت استریل حاوی سرم فیزیولوژی منتقل شدند تا برای جراحی مورد استفاده قرار بگیرند.

برای شروع جراحی ابتدا موش‌ها با مخلوط داروی زایلزین و کتامین به نسبت ۱ به ۲ همراه با محلول سرم فیزیولوژی استریل مورد بیهوشی قرار گرفتند (مقدار داروها برای بیهوشی ۵ سر موش شامل ٤٠ میکرولیتر زایلزین و ۸۰ میکرولیتر کتامین همراه با ۳۸۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی استریل بود که از این ترکیب مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به هر موش به‌صورت صفاقی تزریق شد). پس از بیهوشی کامل، موش‌ها از ناحیهٔ پهلو بر روی تخته جراحی قرار گرفتند و با کمک پنس و قیچی استریل در ناحیهٔ پهلوی شِیو شده یک برش کوچک ایجاد شد، سپس با کمک پنس کانال باریکی در زیر پوست ایجاد شد. در مرحلهٔ بعدی یه قطعه از بافت توموری استخراج شده از موش استوک به انتهای کانال ایجاد شده در زیر پوست موش منتقل شد و محل برش پوست به کمک چسب و منگنه مخصوص بخیه مسدود شد. پس از جراحی به‌منظور ریکاوری، موش‌ها در یک قفس جداگانه و در یک اتاق با دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. محل بخیه جراحی با بتادین ضدعفونی گردید. همچنین موش‌ها به‌صورت هفتگی جهت بررسی روند رشد تومور مورد معاینه قرار می‌گرفتند [۱۵]. نگه‌داری موش‌ها در قفس‌های پُلی‌کربنات مخصوص و تعداد چهار سر موش در هر قفس صورت گرفت. به‌منظور آشنایی با محیط جدید، موش‌ها به‌مدت یک هفته در آزمایشگاه نگه‌داری شدند. پس از آشناسازی، موش‌ها به‌صورت تصادفی و با توجه به همگن‌سازی وزن به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. پس از یک هفته آشناسازی با محیط، سلول‌های سرطانی به موش‌ها تزریق و یک هفته پس از تزریق سلول‌های سرطانی و بعد از اینکه بافت تومور در جایگاه تزریق سلول‌های سرطانی قابل لمس و مشاهده بود، پروتکل پژوهشی آغاز شد و در انتهای شش هفته برنامهٔ تمرینی، خونگیری، بافت‌برداری و اندازه‌گیری وزن موش و حجم تومور انجام گرفت. همهٔ حیوانات در ابتدا و به‌صورت هفتگی با استفاده از ترازو وزن شدند. حجم تومور در دو بُعد اندازه‌گیری شد. بزرگترین بُعد تومور به‌عنوان طول (L) تومور در نظر گرفته شد و بُعد دیگر (در زاویهٔ ۹۰ درجه) به‌عنوان عرض (W) در نظر گرفته شد. پس از پیدایش تومور، هر هفته یک‌بار طول و عرض تومور توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری گردید و با استفاده از فرمول محاسباتی حجم تومور [$V=\pi/6\ (w\times L^2)$] میزان آن تعیین شد [۱٦].

برنامهٔ تمرین هوازی

پروتکل تمرینی: برنامهٔ تمرین هوازی در پژوهش حاضر، شامل شش هفته دویدن روی نوارگردان بود که به سه قسمت دو هفته‌ای تقسیم می‌شد. دو هفتهٔ اول مرحلهٔ آشناسازی با نوارگردان بود که موش‌ها با سرعت ٦ تا ۸ متر بر دقیقه که به‌تدریج افزایش می‌یافت به‌مدت دو هفته هر هفته ۵ روز و هر روز یک جلسه برای ۲۰ دقیقه تمرین می‌کردند. در ادامه دو هفته بعد با افزایش توانایی موش‌ها برنامهٔ تمرین تداومی ابتدا با سرعت ۱۰ و سپس با ۱۲ متر در دقیقه برای مدت ۲۵ دقیقه در هر جلسه انجام شد و در نهایت در دو هفته آخر سرعت به ١٤ و سپس به ١٦ متر در دقیقه رسید و هر جلسه ۳۰ دقیقه موش‌ها تمرین می‌کردند. برنامهٔ تمرین تداومی به‌صورت کامل در جدول ۱ نشان داده شده است. به‌منظور از بین بردن تأثیر استرس نوارگردان بر متغیرهای مورد بررسی، موش‌های گروه کنترل نیز به اندازهٔ مدت زمان برنامهٔ تمرین ورزشی (بین ۲۰ تا ۳۰ دقیقه) روی نوارگردان خاموش قرار داده می‌شدند [۱۷].

جدول ۱- برنامهٔ تمرین هوازی شش هفته‌ای

دورهٔ تمرین	متغیرهای تمرین		
	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)	تکرار (روز در هفته)
هفتهٔ اول و دوم (آشناسازی)	۸-۶	۲۰	۵
هفتهٔ سوم و چهارم	۱۲-۱۰	۲۵	۵
هفتهٔ پنجم و ششم	۱۶-۱۴	۳۰	۵

روش بیان ژن Cox 1 و Cox 2 بافت کبد

بافت کبد نیز به‌منظور اندازه‌گیری بیان ژن جدا و بلافاصله توسط ازت مایع به فریزر منفی ۸۰ منتقل شد. مقداری از بافت کبد برای انجام مراحل ریل‌تایم درون RNA later قرار داده شد و سپس در فریزر منفی ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحلهٔ بعد RNA با استفاده از کیت RiboEx Total RNA isolation solution (GeneAll) استخراج شد و در نهایت بررسی کمی و کیفی آن با استفاده از دستگاه نانودارپ و ژل آگارز یک درصد انجام شد. پس از اطمینان از خلوص و کیفیت RNA استخراج شده، cDNA با استفاده از کیت FIRE Script RT cDNA Synthesis (Solis BioDyne) ساخته شد و به فریزر منفی ۲۰ انتقال داده شد. سپس برای بررسی بیان ژن Cox 1 و Cox 2 بافت کبد، پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش توسط نرم‌افزار Primer 3 طراحی شد و توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Gen	Primer	Product size
Cox 1-F	TCATCCCTTGACATCGTGCT	133
Cox 1-R	ACGAACATGATGGCGAAGTG	
Cox 2-F	GACGAAATCAACAACCCCGT	133
Cox 2-R	TGGCAGAACGACTCGGTTAT	

بیان ژن Cox 1 و Cox 2 بافت کبد در حجم ۲۰ میکرولیتر صورت گرفت به این ترتیب که ۱۰ میکرولیتر Master Mix (AMPLIQON RealQ Plus 2x Master Mix Green) در ویال ریخته شد و سپس ۲ میکرولیتر پرایمر که شامل ۱ میکرولیتر پرایمر پیشرو و ۱ میکرولیتر پرایمر پیرو بود به ویال اضافه شد. در ادامه ۲ میکرولیتر از cDNA ساخته شده به ویال اضافه گردید و در نهایت به آن ۶ میکرولیترآب تزریقی اضافه شد تا حجم مواد به ۲۰ میکرولیتر برسد. سپس نمونه‌ها در دستگاه Rotor-Gene Q real-time PCR cycler (QIAGEN) طبق برنامهٔ مورد نظر که شامل یک مرحله Enzyme Activation به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد و ۴۰ سیکل شامل Denaturation به‌مدت ۱۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد، Annealing-Extention به‌مدت ۳۰ ثانیه بر روی تنظیم و اجرا شد. در نهایت محصولات PCR به‌منظور بررسی اختصاصیت بر روی ژل آگاروز ۱ درصد بررسی شد (جدول ۳).

جدول ۳- مراحل دمایی ریل‌تایم بیان ژن Cox 1 و Cox 2 بافت کبد

مراحل	زمان	دما	سیکل
Enzyme Activation	۱۵ دقیقه	۹۵	۱
Denaturation	۱۰ ثانیه	۹۴	۴۰
Extension-Annealing	۳۰ ثانیه	۶۰	

روش‌های آماری

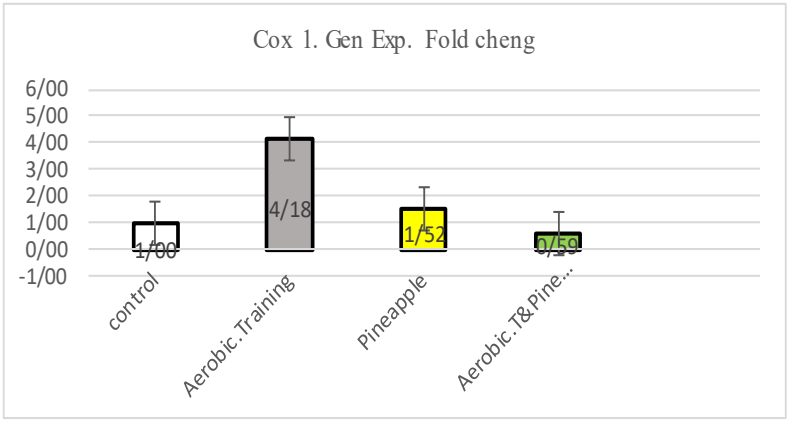
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۲ تجزیه‌وتحلیل شدند. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. جهت مقایسهٔ تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی بن فرونی و جهت مقایسهٔ میزان تأثیر هر یک از متغییرهای مستقل از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و شاخص تعیین اندازه اثر استفاده شد. سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

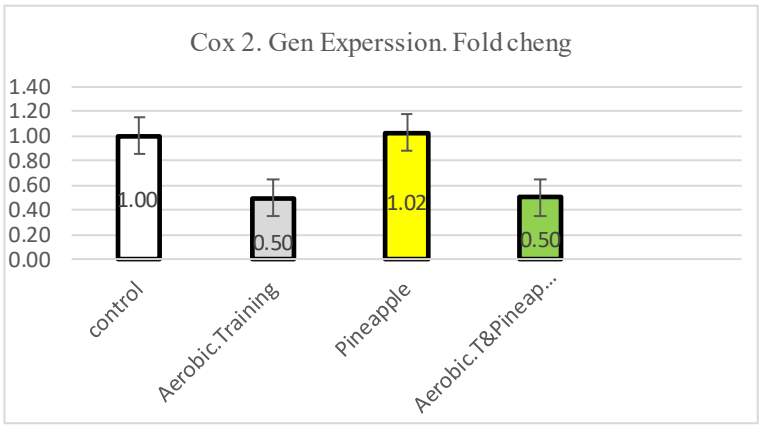
سطوح متغیرهای مورد بررسی شامل وزن موش‌ها، حجم تومور، غلظت سرمی SOD و بیان ژن Cox 1 و Cox 2 بافت کبد ، موش‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار در جدول ٤ گزارش شده است. نمودارهای ۱ تا ٤ تغییرات حجم تومور و تغییرات غلظتی SOD سرمی و بیان ژن Cox 1 و Cox 2 بافت کبد موش‌های گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

جدول ۴- جدول توصیفی سطوح متغیرهای مورد بررسی در گروه‌های پژوهش (انحراف معیار± میانگین)

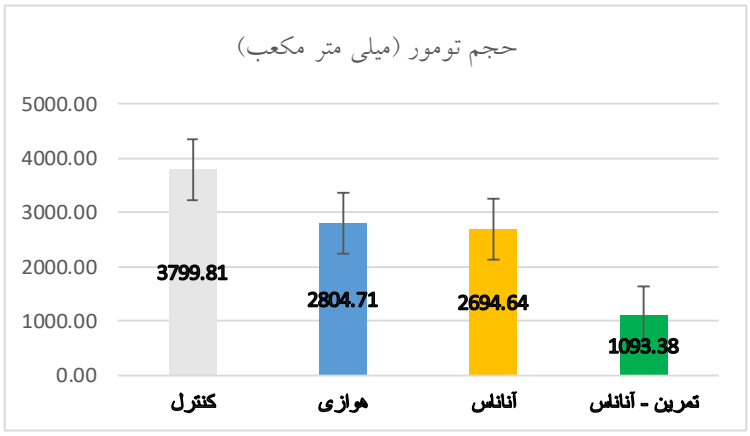
گروه	وزن موش‌ها (گرم)	حجم تومور (میلی‌متر مکعب)	بیان ژن Cox 1 (Fold cheng)	بیان ژن Cox 2 (Fold cheng)	SOD (u/ml)
کنترل	۸/۱۵±۱/۰۹	۳۷۹۹/۸۱±۸۸۲/٤٤	۱±۰	۱±۰	۱۰/۵±۱/۱۹
تمرین هوازی	۱۵±۱/۸۷	۲۸۰٤/۷۱±۷۹۹/۷۹	٤/۱۸±۱/۱۲	۰/۵±۰/٤	۱٤/٦±۰/۸۸
آناناس	۱٤/۵±۱/۲۹	۲٦۹٤/٦٤±۷۳۹/۲۲	۱/۵۲±۱/٤٤	۱/۰±۰/۰۲	۲۱/٤±۰/۷٤
تمرین- آناناس	۱٤/۸±۱/٤۸	۱۰۹۳/۳۸±۷۷٤/۱۳	۰/۵۹±۰/۹۷	۰/۵±۰/٤	۲۵/۷±۱/۹



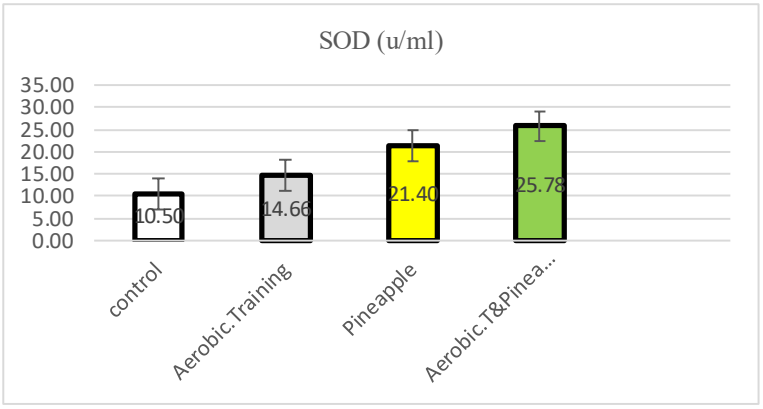
نمودار ۱- تغیرات بیان ژن Cox 1 گروه‌ها



نمودار ۲- تغیرات بیان ژن Cox 2 گروه‌ها



نمودار ۳- تغیرات حجم تومور گروه‌ها



نمودار ۴- تغیرات غلظت سرمی SOD گروه‌ها

تحلیل استنباطی یافته‌ها

جدول ۵ نتایج آزمون تحلیل واریانس گروه‌ها را نشان می‌دهد.

همان‌طور که از نتایج آزمون تحلیل واریانس مشخص است در متغیرهای مختلف بین گروه‌ها تفاوت وجود دارد (جدول ٦).

جدول ۵- نتایج آزمون تحلیل واریانس گروه‌ها

متغیر	F	سطح معنی‌داری
Cox1	۱۳/۷	۰/۰۰۰۱
Cox2	٤/٤٨	۰/۰۱
SOD	۱۳۰/٤۷	۰/۰۰۰۱
حجم تومور	۸/٥٤	۰/۰۰۲

جدول ۶- نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی بنفرونی و نیز اندازه اثر گروه‌ها را نشان می‌دهد

متغییر/شاخص آماری	گروه	گروه	F	Sig.	Effect.Size
حجم تومور (میلی‌متر مکعب)	کنترل	هوازی	۱۰/۸۲	۰/۰۰۵	۰/۸۶
		آناناس	۱۲/۷۳	۰/۰۰۳	۰/۹۶
		هوازی+ آناناس	۰/۵۹	۰/٤٥٤	۰/۱۱
بیان ژن Cox 1 (Fold cheng)	کنترل	هوازی	۵/۹۶	۰/۰۲	۰/۲۸٤
		آناناس	۱۱/۰۹	۰/۰۰۵	۰/٤۲۵
		هوازی + آناناس	۱۹/۹٤	۰/۰۰۰۱	۰/۵۷۱
بیان ژن Cox 2 (Fold cheng)	کنترل	هوازی	۱۳/٤۱	۰/۰۰۲	۰/٤۷۲
		آناناس	۰/۰۱	۰/۹۱	۰/۰۰۱
		هوازی + آناناس	۰/۰۰۳	۰/۹۵	۰/۰۰۰
غلظت سرمی SOD (u/ml)	کنترل	هوازی	٤۸/۹۷	۰/۰۰۰۱	۰/۷۶۶
		آناناس	۳۲۵/۵۹	۰/۰۰۰۱	۰/۹۵۶
		هوازی + آناناس	۰/۰۳	۰/۸۵	۰/۰۰۲

نتایج آزمون دو عاملی و شاخص اندازه اثر نیز نشان می‌دهد در حجم تومور بین گروه‌های تجربی تمرین هوازی و عصاره آناناس و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد و شاخص اندازه اثر آنها بالاست. بیان ژن Cox 1 نیز بین هر سه عامل تجربی و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود دارد و اندازه اثر قابل توجهی دارند که تعاملی تمرین- آناناس بیشتر است. در مورد بیان ژن Cox 2 نیز بین گروه تمرین هوازی و کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد که شاخص اندازه اثر بالایی دارد و در مورد شاخص آنتی اکسیدان SOD نیز بین گروه‌های تمرین و آناناس با کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود و اندازه اثر بالایی دارند.

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی و عصارهٔ آناناس منجر به کاهش وزن و کاهش معنی‌دار حجم تومور شده و بیان ژن Cox 1 در گروه تمرین هوازی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته و در گروه آناناس با کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ولی در گروه تعاملی تمرین- آناناس نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری یافت همچنین بیان ژن Cox 2 بافت کبد در گروه‌های تجربی تمرین هوازی و گروه تعاملی تمرین- آناناس نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری داشت ولی در گروه آناناس نسبت به کنترل تفاوت بیان این ژن معنی‌دار نبود.

در این رابطه نتایج را می‌توان به این صورت استنباط و با توجه به نتایج پژوهش حاضر و یافته‌های پیشین تحلیل کرد: نتایج وزن موش‌ها نشان داد که وزن موش‌ها در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل کاهش داشت که در گروه تمرین- آناناس میزان کاهش وزن بیشتر بود. همچنین نتایج نشان داد حجم تومور در گروه‌های تجربی کاهش داشته که در گروه آناناس و تعاملی تمرین- آناناس معنی‌دار و در گروه تمرین کاهش غیرمعنی‌داری در حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما ایجاد شد ولی تمرین- عصارهٔ آناناس حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما را بیشتر کاهش داد که شاخص اندازه اثر عصارهٔ آناناس بیشتر بود. نتایج همچنین نشان داد تغییرات حجم تومور در بین گروه تمرین- آناناس و کنترل نسبت به گروه‌های دیگر کاهش بیشتری نشان می‌دهد که معنی‌دار است و در بقیهٔ گروه‌ها نیز نسبت به کنترل کاهش غیر معنی‌دار مشاهده می‌شود. یافته‌های پژوهش حاضر موافق با یافته‌های مورفی (۲۰۱۱) بود و در هر دو پژوهش کاهش حجم تومور بعد از یک دورهٔ تمرین استقامتی مشاهده شد و احتمالاً اگر طول مدت تمرین در پژوهش حاضر با مداخلات تغذیه‌ای

همراه ادامه می‌یافت کاهش حجم تومور در گروه تمرین نیز شاید معنی‌دار می‌شد اما در گروه آناناس کاهش معنی‌دار بوده و تأثیر بیشتری بر حجم تومور داشته که تأثیر خود را در گروه تعاملی تمرین- آناناس نشان داده و حجم تومور را نسبت به تمرین بیشتر کاهش داده است. Amani-Shalamzari (۲۰۱۷) تأثیر تمرین‌های ورزشی بر سطوح عوامل التهابی در موش‌های توموری را مطالعه کردند و بیان کردند شش هفته تمرین استقامتی روی نوارگردان منجر به کاهش معنادار سطوح IL-6 و VEGF در بافت تومور موش‌های حامل تومور پستان شد [۱۷]. Bacurau و همکاران (۲۰۰۷) در رابطه با اثرگذاری مثبت تمرین‌های با شدت بالا در کاهش حجم تومور نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین شدید روی نوارگردان (پنج جلسه در هفته، ۳۰ دقیقه، ۸۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) منجر به کاهش معنی‌دار حجم تومور در رت‌های حامل تومور می‌شود. علاوه بر این، تمرین‌های ورزشی با افزایش معنی‌دار بقا در مقایسه با گروه کنترل تومور همراه بود. این نتایج نشان می‌دهد که انواع مختلف تمرین‌های ورزشی می‌تواند نقش مؤثری در سرکوب رشد تومور داشته باشد [۱۸].

همهٔ این یافته‌ها بر اثرات ضدالتهابی تمرین‌های ورزشی در موش‌های مبتلا به سرطان تأکید دارد که می‌تواند به کاهش معنادار حجم تومور نیز منجر شود. Murphy (۲۰۱۱)[1] کاهش معنی‌دار حجم تومور را به‌دنبال تمرین‌های هوازی در موش‌های سرطانی به افت عوامل التهابی نسبت دادند گفته می شود که این کاهش التهاب، احتمالاً در اثر کاهش رهایش سایتوکاین‌ها از قبیل IL-6 در پاسخ به انقباض عضلانی منظم است [۱۹].

البته تومور مورد بررسی در پژوهش حاضر متفاوت از پژوهش‌های فوق بود و مدت زمان دورهٔ تمرین در پژوهش حاضر (شش هفته) به خاطر نوع سرطان و ردهٔ سلولی آن که بسیار تهاجمی بود و با توجه به رشد تومور امکان ادامه کار وجود نداشت که نشان می‌دهد حتی دورهٔ کوتاه مدت تمرین ورزشی نیز می‌تواند منجر به کند شدن روند رشد تومور شود. نتایج پژوهش حاضر همچنین نشان داد بیان ژن Cox 1 در گروه‌های تجربی تمرین هوازی افزایش معنی‌دار داشت ولی در گروه تعاملی تمرین-آناناس کاهش معنی‌دار مشاهده شد.

همچنین بیان ژن Cox 2 بافت کبد درگروه‌های تجربی تمرین هوازی و گروه تعاملی تمرین- آناناس نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری داشت ولی در گروه آناناس نسبت به کنترل تفاوت بیان این ژن معنی‌دار نبود. آنزیم Cox-1 در اکثر بافت‌ها به‌طور پیوسته بیان می‌شود، درحالی‌که Cox-2 به‌عنوان جزئی از واکنش‌های التهابی درپاسخ به تحریکات خارج سلولی سریعاً القاء می‌گردد. به‌علاوه Cox-2 نقش مهمی در تنظیم تکثیر سلولی، تمایززدایی و سرطان‌زایی ایفاء می‌کند. در واقع Cox-2 با التهاب، درد، رگ‌زایی، سرطان و بیماری آلزایمر ارتباط دارد [۳، ٤]. مطالعات زیادی افزایش میزان Cox-2 در سلول‌های ترانسفرم شده و اشکال مختلف سرطان را نشان داده‌اند [۲۱ ،۲۰ ،۷]. مطالعات بالینی و اپیدمیولوژیکی حاکی از کاهش خطر ایجاد تومورهای بدخیم مثل سرطان کولون در اثر مصرف منظم داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی مثل آسپرین و سالینداک هستند. بنابراین مهارCox-2 به‌عنوان یک راهبرد امیدبخش و مؤثر برای درمان و جلوگیری از سرطان مورد توجه قرار گرفته است [۲۱ ،۲۰ ،۷ ،٤ ،۳]. مطالعات نشان می‌دهند با وجود آخرین پیشرفت‌ها در راهبردهای درمانی ترکیبی کمکی، اکثر بیماران مبتلا به ملانوم متاستاتیک هنوز پیش آگهی ضعیفی دارند [۲۳ ،۲۲].

بنابراین، ادامهٔ مطالعه راهبردهای جدیدتر برای افزایش بقای بیماران ملانوما مهم است. سرطان ملانوما تومور بدخیمی است که از تغییر شکل و تکثیر ملانوسیت‌ها که به‌طور طبیعی در لایهٔ سلولی پایه اپیدرمیس قرار دارند، ایجاد می‌شود. از سوی دیگر بررسی ترکیبات موجود در عصاره‌های گیاهی و تأیید اثرات ضدسرطانی‌ها آن محققان بر را آن داشته تا توجه ویژه به این ترکیبات در جهت درمان گروه‌های متفاوت سرطانی داشته باشند. مطالعات اپیدمیولوژیک [۲۵ ،۲٤]، بالینی [۲۸-۲٦] و حیوانی [۳۰ ،۲۹] نشان داده‌اند که بیان شدن یا فعال شدن بیش از حد آنزیم‌های سیکلواکسیژناز (COX) و لیپوکسیژناز (LOX) در طول سرطان‌زایی منجر به متابولیسم نابجای اسید آراشیدونیک می‌شود. نقش اتوکرین و پاراکرین پروستاگلاندین‌ها و لکوترین‌ها در تکثیر سلول‌های اپیتلیال تومور، آپوپتوز، مهاجرت و تهاجم توسط وانگ و دوبویس بررسی شده است [۳۱]. طبق مطالعات استفاده از مهارکننده‌های COX و LOX همراه با سایر عوامل

[1] Murphy et al. 2011

شیمی‌درمانی یک زمینهٔ تحقیقاتی امیدوارکننده در انکولوژی است. اثرات هم‌افزایی مهارکننده‌های COX با چندین عامل ضد سرطان شاید به‌دلیل در دسترس بودن بالینی انواع داروهای NSAIDها در مقابل ماهیت تجربی مهارکننده‌های انتخابی LOX توجه بیشتری را به خود جلب کرده است [۳۲]. پروستاگلاندین‌ها نقش مهمی را در پاتوفیزیولوژی سرطان و التهاب ایفا می‌کنند. پروستاگلاندین‌ها دارای اثراتی از قبیل فعالیت ضد توموری، مهار سیکل سلولی، مهار تکثیر ویروس و تحریک استئوژنز هستند. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که بیان ژن Cox-2 با رفتار تهاجمی تومور و خصوصیت بدخیمی بیشتر آن ارتباط دارد.

با توجه به اینکه سیکلواکسیژناز یک آنزیم کلیدی درسنتز پروستاگلاندین‌ها از اسید آراشیدونیک است، بیان زیاد پروستاگلاندین‌ها نشان دهندهٔ فعال بودن آنزیم Cox-2 است که در پژوهش حاضر نیز مشاهده گردید. در پژوهش حاضر غلظت آنتی‌اکسیدان SOD در گروه‌های تجربی تمرین و عصارهٔ آناناس نسبت به کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش داشت. Nokhbeh Zaeem و همکاران (۲۰۲۰) بیان ژن‌های Cox2 و SOD روی سلول‌های سرطانی انسانی MCF-7 در تومور پستان در گروه‌های تیمار شده با عصارهٔ جلبک یوکیوما کوتونی وداروی تاموکسیفن مطالعه کردند و نشان دادند در گروه‌های تیمار یک کاهش معنی‌دار را در مقایسه با گروه تومور نشان داد و میزان این کاهش برای عصارهٔ جلبک یوکیوما بیشتر بود [۵] و براساس این مطالعه و برخی مطالعات پیشین از جمله مطالعهٔ جان وی لی و همکاران (۲۰۱۳) نشان شده است که عصارهٔ اتانولی جلبک یوکیوما کوتونی در مهار رشد تومور و بهبود وضعیت اکسیداتیو سلول‌های سرطانی مؤثرتر از تاموکسیفن است و برخلاف تاموکسیفن سمیت کمتری روی کبد و کلیه‌ها دارد[۵].همچنین Khameneh و همکاران (۱۳۹۱) تأثیر تمرین هوازی و مصرف طولانی مدت رسوراترول را بر بیان سیکلواکسیژنازهای Cox1 و Cox2 و عامل التهابی NF-KB در نفروپاتی موش‌های دیابتی مطالعه کردند و نتیجه گرفتند مصرف رسوراترول یک مهار کننده عامل التهابی NF-KB عمل کرده و فعالیت Cox2 را به‌طور معنی‌داری در کلیهٔ موش‌های دیابتی کاهش داد [۳۳] عقیده بر این است رسوراترول یک مهار کننده غیر رقابتی Cox1 بوده و برخی از آثار ضد سرطانی خود را از طریق مهار NF-KB و در نتیجه کاهش بیان Cox2 نشان می‌دهد [۳۴، ۳۵] Firozi-Niyaki و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند القای بافت سرطانی در موش‌ها موجب افزایش مقادیر Cox2 و پروستاگلاندین شد و تمرین‌های استقامتی به همراه مصرف تاکسول توانست اثرات مفیدی بر این عوامل درگیر در سرطان داشته باشد و طی یک دوره شش هفته‌ای میزان Cox-2 را در گروه‌های تجربی کاهش دهد [۳۶]. از طرفی طبق تحقیقاتی که Michael و همکاران (۲۰۰۷) روی خواص آنتی‌اکسیدانی آناناس بر روی ملانوما انجام دادند مشخص شد که برومیلین جزء اصلی فعال در میوهٔ آناناس بوده و از دسته آنزیم‌های پروتئولیتیک محسوب می‌شود. پژوهش این محقق نشان دهنده بازداری واضح برومیلین از تکثیر سلولی است [۸].

همچنین قابل ذکر است طبق تحقیقاتی که Bhui و همکاران (۲۰۱۰) روی خاصیت سایتوتوکسیک آناناس در القای آپوپتوز در سلول‌های سرطان سینه انجام شد، مشخص شد که سلول‌های سرطانی MCF-7 که تحت تیمار با برومیلین به دست آمده از میوهٔ آناناس بودند، پاسخ مهاری تأخیر رشد القای اتوفاژی را نشان دادند که این مسأله به‌علت نقش برومیلین بر تنظیم فسفریلاسیون خارج سلولی است [۳۷]. برخی از مطالعات نیز تولید پروستاگلاندین‌ها را در پاسخ به سیتوکین‌ها و سایر واسطه‌های التهابی بررسی کرده‌اند و نشان داده‌اند که افزایش فعالیت COX احتمالاً می‌تواند بیان آن را افزایش دهد [۳۴].

به‌نظر می‌رسد که نقش پیش التهابی عمدتاً می‌تواند توسط سیکلواکسیژناز ۲ ایجاد شود، درحالی‌که فعالیت‌های اساسی‌تر توسط سیکلواکسیژناز۱ تنظیم می‌شود. در بیشتر تحقیقات صورت گرفته در خصوص انواع فعالیت بدنی و سرطان، نتایج کلی حاکی از آن است که افرادی که فعالیت بیشتری دارند کمتر در خطر ابتلا به سرطان قرار دارند[۳۸]. Nam و همکاران (۲۰۱۱) اثرات مختلف فعالیت بر روی تردمیل بر سطح سیکلواکسیژناز ۲ مورد بررسی قرار دادندنتایج نشان داد که سطح سیکلواکسیژناز ۲ افزایش یافت [۳۹]. همچنین در مطالعه Barrari و همکاران (۲۰۱۳) که به بررسی فعالیت هوازی و مکمل سیلی‌مارین بر سطوح سیکلواکسیژناز ۲ و فاکتورهای

انعقادی در زنان غیرفعال پرداختند؛ نتایج حاکی از افزایش معنادار سیکلواکسیژناز ۲ در گروه تمرین و ترکیبی بود [۴۰]. نتایج تحقیق حاضر با تحقیقات یادشده در تناقض است. علت این تفاوت می‌تواند به نوع مدل سرطان ایجاد شده و نوع، شدت، مدت تمرین و همچنین نمونه‌های متفاوت انسانی و حیوانی و نیز نوع عصاره و مکمل استفاده شده مربوط باشد. در تحقیق حاضر آزمودنی‌های حیوانی سرطانی ملانومای پوست مورد بررس قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری

آنزیم Cox-1 در اکثر بافت‌ها به‌طور پیوسته بیان می‌شود و Cox-2 نیز با التهاب و درد، رگ‌زایی، سرطان و بیماری آلزایمر ارتباط دارد کند. بنابراین کاهش و مهارآن به‌عنوان یک راهبرد امیدبخش و مؤثر برای درمان و جلوگیری از سرطان می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. در پژوهش حاضر نیز با توجه به یافته‌ها و افزایش Cox2 در گروه تمرین و کاهش معنی‌دار آن در گروه تعاملی تمرین- آناناس، از آنجا که تمرین ورزشی برای موش‌های بیمار سرطانی شده می‌تواند استرس‌زا و التهاب‌زا باشد، لذا استفاده از عصاره‌های طبیعی حاوی مواد آنتی‌اکسیدانی مانند آناناس که حاوی مادهٔ موثرهٔ بروملین و ... است با خواص آنتی‌اکسیدانی خود و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD و احتمالاً کنترل و مهار عوامل التهابی مانند NF-KB که اندازه‌گیری آن در مطالعات مشابه توصیه می‌شود، می‌تواند استرس و التهاب ناشی از تمرین توسط موش‌های بیمار کمتر کند و استفاده و تیمار موش‌ها با تمرین و عصارهٔ آناناس به نتایج موثرتر و مفیدتری در کاهش حجم تومور و کنترل بیماری که در مطالعه حاضر نیز ملاحظه شد، منجر شود. از آنجا که ترکیبات گیاهی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی عوارض جانبی کمتری دارند لذا شناسایی راهبردهای جدید برای استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان جایگزین مناسبی بجای داروهای شیمیایی باشد در کنار فعالیت ورزشی مناسب می‌تواند کمک شایانی به بهبود بیماران سرطانی کند.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از رسالهٔ دکتری بود و با کد اخلاق IR.SSRC.REC .1401.063 در کمیتهٔ اخلاق پزشکی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی تأیید شد، لذا از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

مآخذ

1. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2016; 25(1):16-27.
2. Ahmed B, Qadir MI, Ghafoor S. Malignant Melanoma: Skin Cancer-Diagnosis, Prevention, and Treatment. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2020; 30(4):291-297.
3. Namvar F, Mohamed S, Ghasemi-Fard S,Behravan J, Mustaphab N, Banu N, et al. Polyphenolrich seaweed *(Eucheuma cottonii)* extract suppresses breast tumor via hormone modulation and apoptosis induction. *Food Chem*. 2012; 130(2):376-382.
4. Sharifi R, Hedayati M, Rasmi Y, Rahmati-Yamchi M, Fatemi F, Dadkhah A et al . Cyclooxygenase prevention and treatment. *Research in Medicine*. 2007; 31 (3):297-289.
5. Nokhbeh Zaeem Sh, Heydari Nasrabadi M, Salehi pour M. Effects of *Eucheuma Cottoni L* Algae on *COX2* and *SOD* genes in breast cancer tissue induced in Balb-C mice by Real-Time PCR. *Razi J Med Sci*. 2020; 26(11):87-97.
6. Giampieri F, Alvarez-Suarez JM, Mazzoni L, et al. Polyphenol-rich strawberry extract protects human dermal fibroblasts against hydrogen peroxide oxidative damage and improves mitochondrial functionality. *Molecules*. 2014; 19(6):7798-7816. Published 2014 Jun 11.
7. Nikkhah E, Khayami M, Heidari M. Evaluation of Nitric Oxide Scavenging Activity of Anthocyanins from Black Berry (Morus Nigra L.), Strawberry (Fragaria Vesca L.) and Berry) Morus Alba L. Var. Nigra) Extracts. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 2009; 25(1): 120-8.
8. Michael A, Hedayati B, Dalgleish AG. Disease regression in malignant melanoma: spontaneous resolution or a result of treatment with antioxidants, green tea, and pineapple cores? A case report. *Integr Cancer Ther*. 2007; 6(1):77-79.
9. Roussis IG, Lambropoulos I, Soulti K. Scavenging Capacities of Some Wines and Wine Phenolic

Extracts. *Food Technology and Biotechnology*. 2005; 43(4): 351-8.
10. Gholamian R, Nikoonahad Lotfabadi N, Haghiralssadat B F. Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Effects of Liposomes Containing Pineapple Fruit Extract on Melanoma Skin Cancer (A375 Cell Line). *JSSU*. 2020; 28 (2):2411-2424.
11. Raeisi F, Raeisi E, Shahbazi-Gahrouei D, Heidarian, Amiri M, Gholami M. Cytotoxicity Effect of Pineapple Extract on Breast Cancer Cells (4T1). *J Isfahan Med Sch*. 2016; 34(394): 946-51.
12. Septembre-Malaterre A, Stanislas G, Douraguia E, Gonthier M-P. Evaluation of Nutritional and Antioxidant Properties of the Tropical Fruits Banana, Litchi, Mango, Papaya, Passion Fruit and Pineapple Cultivated in Réunion French Island. *Food chem*. 2016; 212: 225-33.
13. Castano AP, Mroz P, Hamblin MR. Photodynamic Therapy And Anti-Tumour Immunity. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6(7): 535-45.
14. Brannon-Peppas L, Blanchette JO. Nanoparticle and Targeted Systems for Cancer Therapy. *Advanced drug delivery reviews*. 2012; 64(supplement): 206-212.
15. Khori V, Amani Shalamzari S, Isanejad A, et al. Effects of exercise training together with tamoxifen in reducing mammary tumor burden in mice: Possible underlying pathway of miR-21. *Eur J Pharmacol*. 2015; 765:179-187.
16. Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer [published correction appears in J Appl Physiol. 2010 Apr;108(4):1021]. *J Appl Physiol (1985)*. 2010; 108(2):343-348.
17. Amani-Shalamzari S, Aghaalinejad H, Alizadeh S, Kazmi A, Saei M A, Minayi N et al . The effect of endurance training on the level of tissue IL-6 and VEGF in mice with breast cancer. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2014; 16 (2):10-21.
18. Bacurau AV, Belmonte MA, Navarro F, et al. Effect of a high-intensity exercise training on the metabolism and function of macrophages and lymphocytes of walker 256 tumor bearing rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2007; 232(10):1289-1299.
19. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux TL, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine*. 2011; 55(2):274-279.
20. Higashi Y, Kanekura T, Kanzaki T. Enhanced expression of cycloxygenase (Cox)-2 in human skin epidermal cancer cells: Evidence for growth suppression by inhibiting Cox-2 expression. *Int J Cancer*. 2000; 86:667-71.
21. Dannenberg AJ, Altork: NK, Boyle Jo, Dang C, Howe LR, weksler BB, et al. Cyclooxygense 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet oncol*. 2001; 2:544-51.
22. Wada-Ohno M, Ito T; Furue M. Adjuvant Therapy for Melanoma. Curr. Treat. *Options Oncol*. 2019, 20, 63.
23. Namikawa K; Yamazaki N. Targeted Therapy and Immunotherapy for Melanoma in Japan. *Curr. Treat. Options Oncol*. 2019, 20, 7.
24. Goodman JR, Grossman D. Aspirin and other NSAIDs as chemoprevention agents in melanoma. *Cancer Prev. Res*. 2014, 7,557–564.
25. Ma Y, Yu P, Lin S; Li Q, Fang Z, Huang Z. The association between nonsteroidal anti-inflammatory drugs and skin cancer:Different responses in American and European populations. *Pharmacol. Res*. 2020, 152, 104499.
26. Denkert C, Kobel M, Berger S, Siegert A, Leclere A, Trefzer U, Hauptmann S. Expression of cyclooxygenase 2 in human malignant melanoma. *Cancer Res*. 2001, 61, 303–308.
27. Becker MR, Siegelin, MD, Rompel R, Enk AH, Gaiser T. COX-2 expression in malignant melanoma: A novel prognostic marker? *Melanoma Res*. 2009, 19, 8–16.
28. Winer I, Normolle DP, Shureiq, I, Sondak VK, Johnson T, Su L, Brenner DE. Expression of 12-lipoxygenase as a biomarker for melanoma carcinogenesis. *Melanoma Res*. 2002, 12, 429–434.
29. Panza E, De Cicco P, Ercolano G, Armogida C, Scognamiglio G, Anniciello, AM, Botti G, Cirino G, Ianaro A. Differential expression of cyclooxygenase-2 in metastatic melanoma affects progression free survival. *Oncotarget*. 2016, 7, 57077–57085.
30. Vad NM, Kudugunti SK, Wang H, Bhat GJ, Moridani MY. Efficacy of acetylsalicylic acid (aspirin) in skin B16-F0 melanoma tumor-bearing C57BL/6 mice. Tumour Biol. 2014, 35, 4967–4976.
31. Wang D, Dubois RN. Eicosanoids and cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2010, 10, 181–193.
32. Da-Costa-Rocha I, Prieto JM. In Vitro Effects of Selective COX and LOX Inhibitors and Their Combinations with Antineoplastic Drugs in the Mouse Melanoma Cell Line B16F10. *Int. J. Mol. Sci*. 2021,22,6498.
33. Khameneh S, Ghadiri Soufi F, Alipour MR, Afshar F, Mirzaei F. The Efficacy of Long-Term Resveratrol Administration on the Activity of Cyclooxygenase 1 and 2 and Nuclear Factor Kappa B in Type 2 Diabetic Rat Kidney. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services*. 2013;35(5): 26-33.
34. Yar AS, Menevse S, Alp E, Helvacioglu F, Take G. The effects of resveratrol on cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 mRNA and protein levels in diabetic rat kidneys. *Mol Biol Rep*. 2010; 37: 2323-3231.
35. Banerjee S, Bueso-Ramos C, Aggarwal BB. Suppression of 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats by resveratrol: role of nuclear factor kB, cyclooxygenase2, and matrix metalloprotease 9. *Cancer Res*. 2002; 62: 4945–4954.
36. Firozi-Niyaki M, Barari AR, Abbassi-Daloii A. The effect of endurance training and taxol on cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 levels in the liver tissue of mice with cervical cancer. *Feyz.* 2018; 22(5): 517-24.
37. Bhui K, Tyagi S, Prakash B, and Shukla Y. Pineapple Bromelain Induces Autophagy, Facilitating Apoptotic Response in Mammary Carcinoma Cells. *BioFactors*. 2010; 36(6): 474-82.

38. Renna NF, et al. Role of Cox-2 in vascular inflammation: an experimental model of metabolic syndrome. *Mediators Inflamm*. 2013; 2013
39. Nam SM, et al. Differential effects of treadmill exercise on cyclooxygenase-2 in the rat hippocampus at early and chronic stages of diabetes. *Lab Anim Res*. 2011; 27:189–189.
40. Barrari A, Abbassi Daloii A, Tamaskani N. The effect of combining the aerobic exercise and silymarine on the cyclooxygenase-2 and coagulation factors in young inactive women. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*. 2013; 3(3):342-349

Changes in Cyclooxygenase Enzymes and Liver Tissue Antioxidants Following Aerobic Exercise and using Pineapple Extract in Mice with Skin Cancer

Alireza Zandinejad[1], Hossein Abednatanzi[1*], Farshad Ghazalian[1], Alireza Barari[2]

1. Department of physical education and sport science, Science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

ABSTRACT

Background: The aim of the present study was to study the changes in the expression of Cox-1 and Cox-2 genes in liver tissue and tumor volume after aerobic exercise and consumption of pineapple extract in mice with skin cancer.
Methods: This fundamental-laboratory study was conducted on 32 male C57BL/6 mice in four groups including control, aerobic exercise, pineapple extract and aerobic-pineapple exercise. After tumor induction, the animals underwent aerobic training program for six weeks and pineapple extract was gavage at 300mg/kg. The weight and tumor volume of mice were measured. After obtaining blood and tissue samples, expression of Cox-1 and Cox-2 genes in liver tissue was done by RT-PCR method. Then the data were analyzed using one-way analysis of variance, two-factor analysis of variance and post hoc test, and the significance level of $p \leq 0.05$ was considered.
Results: Compared to the control group, aerobic exercise and pineapple-exercise showed a significant decrease in tumor volume and a decrease in the expression of Cox-1 (0.59 ± 0.97) and Cox-2 (0.5 ± 0.4) gene expression in the aerobic-Pineapple compared to the control group (1 ± 0) ($p \leq 0.05$). Cox1 gene expression increased significantly in the Aerobic exercise group, but a significant decrease was observed in the pineapple-Aerobic group. Also, Cox2 gene expression in the liver tissue in the exercise group Aerobic and interactive Aerobic-pineapple group had a significant decrease compared to the control, but in the pineapple group compared to the control, the difference in the expression of this gene was not significant.
Conclusion: The results of the present study showed that the expression of Cox 1 gene was significantly increased in the aerobic training group and significantly decreased in the pineapple-training group. Cox-2 gene expression in the liver tissue in the aerobic training group and the pineapple-training interactive group had a significant decrease compared to the control, because the Cox-2 enzyme is related to inflammation and pain, angiogenesis, cancer and Alzheimer's disease. Therefore, it can be concluded that its inhibition or reduction can be considered as a promising and effective strategy for the treatment and prevention of cancer.

Keywords: Aerobic Exercise, Pineapple, Melanoma Cancer, Cox-1, Cox-2

* Science and Research Branch, Faculty of Humanities. Department of Physical Education and Sports Science, Daneshgah Blvd, Simon Bulivar Blvd, Tehran Phone Number: 44865179-82 & 44865154-8. Tel: +989126107064, Email: abednazari@gmail.com

Copyright © 2023 Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.