

تغییرات بیان ژن سرکوبگر تومور (TP53) بافت کبد و شاخص های اکسیداتیو متعاقب شش هفته تمرین مقاومتی و مصرف عصاره آناناس در موش های مبتلا به سرطان ملانوما

سعید شهرستانی^۱، حسین عابد نطنزی^۲، بهرام عابدی^۳، شهرام سهیلی^۴

- ۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
- ۲- گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران. نویسنده مسئول: abednazari@gmail.com
- ۳- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
- ۴- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: سرطان ملانوما شدیدترین زیر مجموعه سرطان پوست است که قدرت تهاجم بالا و متاستاز سریع به سایر اندامها را دارد. اخیرا نقش تمرینات ورزشی در پیشگیری و درمان سرطان بسیار مورد توجه قرار دارد. آناناس نیز متعلق به خانواده برومولیاسه و زیر خانواده برومولوئیده می باشد که خواص ضد سرطانی آن مطرح شده است. ژن P53 یک ژن مهار کننده تومور است. هدف پژوهش حاضر مطالعه تاثیر شش هفته تمرین مقاومتی و مصرف عصاره آناناس بر حجم تومور و بیان ژن P53 بافت تومور و عوامل اکسیداتیو آنتی اکسیدانی در موش های مبتلا به سرطان ملانوما بود.

مواد و روش ها: این مطالعه بنیادی بر روی ۳۲ موش نژاد C57 بعنوان نمونه شروع شد که در انتها بر روی ۲۰ سر موش های باقیمانده در چهار گروه شامل کنترل، تمرین مقاومتی، عصاره آناناس و تمرین مقاومتی- آناناس انجام شد. پس از القای تومور به موش ها، برنامه تمرین مقاومتی و عصاره دهی آناناس به میزان ۳۰۰ mg/kg بصورت گاواژ به مدت شش هفته اجرا شد. وزن و حجم تومور موش ها اندازه گیری شد. اندازه گیری بیان ژن P53 بافت تومور به روش RT-PCR انجام گرفت. سپس داده ها با استفاده آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی مورد تجزیه تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی داری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج: نشان داد در مقایسه با گروه کنترل، تمرین مقاومتی و تمرین - آناناس به کاهش معنی دار حجم تومور و کاهش بیان ژن P53 بافت تومور و افزایش شاخص آنتی اکسیدانی GPX و کاهش شاخص استرس اکسیداتیو MDA در گروه های تجربی شد که در گروه تعاملی تغییرات میانگین و اثر بخشی بیشتر بود.

نتیجه گیری: تمرین مقاومتی و عصاره آناناس منجر به کاهش وزن و کاهش معنی دار حجم تومور و افزایش بیان ژن P53 سرکوب کننده تومور و افزایش شاخص آنتی اکسیدانی GPX و کاهش شاخص استرس اکسیداتیو MDA در در گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل در بافت تومور شد.

کلمات کلیدی: تمرین مقاومتی، آناناس، سرطان ملانوما، تومور، P53

مقدمه

سرطان عامل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان و کشورها با هر سطح درآمدی است. علاوه بر این، انتظار می رود که تعداد موارد سرطان و مرگ و میر با رشد جمعیت، پیر شدن و اتخاذ رفتارهای سبک زندگی که خطر ابتلا به سرطان را افزایش می دهد، به سرعت افزایش یابد (۱). ملانوما یک سرطان پوست است که در اثر بدخیمی ملانوسیت ها ایجاد می شود. بروز ملانوم در سراسر جهان به سرعت در حال افزایش است که منجر به مشکلات بهداشت عمومی می شود. برابر آمارهای منتشر شده در مجموع سالانه ۵۰ میلیون مرگ در جهان روی می دهد که بیش از ۵ میلیون آنها به انواع مختلف سرطان نسبت داده می شوند. ملانومای بدخیم هم ۲ درصد از کل سرطان ها را شامل می شود، ولی عامل یک درصد مرگ و میرهای ناشی از سرطان است. عوامل مستعد کننده ی این بیماری داشتن نژاد سفید، در معرض آفتاب شدید قرار گرفتن، سابقه ی خانوادگی، ژنتیک، سابقه ی ملانومای قبلی، سرکوب ایمنی و خال های غیر طبیعی است (۲).

عوامل و پروتئین های مختلفی در سرطان نقش دارند که پروتئین سرکوبگر تومور یا p53 یکی از آنهاست که نقش مهمی در سرکوب سرطان دارد (۳). این پروتئین فعالیت های سرکوب کننده تومور خود را عمدتاً با عمل به عنوان یک عامل رونویسی، فعال سازی بیش از دویست ژن مختلف هدف، انجام می دهد. همچنین p53 به عنوان یک عامل مهم حاکم بر پاسخ های ایمنی ذاتی و سازگار، تولید مثل، رشد، تخریب عصبی و پیری شناخته شده است (۴) اخیراً با آشکار شدن نقش p53 در متابولیسم ممکن است برای عملکرد سرکوبگر تومور ضروری باشد (۵). یکی از مهم ترین مهارکننده های چرخه تکثیر سلولی، مولکول P53 می باشد که آن را محافظ ژنوم نامگذاری می کنند. این مولکول با ایجاد وقفه در مرحله G2 باعث مهار شدن چرخه سلولی می شود و با القای آپوپتوز

از ایجاد تومور پیشگیری می نماید. تخریب DNA عامل اصلی فعالیت این مولکول می باشد (۶). با درک این که نقص در آپوپتوز می تواند در بروز بیماری هایی از قبیل سرطان ایفای نقش کند، علاقه به کنترل آپوپتوز در بین محققان رو به افزایش است و پیشرفت های اخیر در زمینه تشخیص های سلولی و مولکولی سبب شناسایی فاکتورهایی شده که در کاهش پیشرفت و سرعت سلول های سرطانی نقش دارند که پروتئین سرکوبگر تومور P53 یکی از آنهاست (۷). ژن P53 چرخه سلولی و مسیرهای بازسازی DNA را به عنوان بخشی از عملکرد صریح و مهم آن در حفظ پایداری ژنوم تنظیم می کند. P53 در تنظیم چرخه سلولی، پیری، آپوپتوز و ثبات ژنوم فعال است. ژن p53 روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ قرار دارد و ایجاد اختلال و یا غیر فعال شدن پروتئین p53 منجر به بروز سرطان می گردد و در پژوهشی نشان داده شد مسیرهای ژنتیکی که توسط p53 طی فعالیت های ورزشی تنظیم می شود ممکن است به تشریح مشاهدات اپیدمیولوژیک مرتبط با آمادگی قلبی تنفسی و سرطان کمک کند (۸). مطالعات نشان داد p53 می تواند در ژنهایی که در هماهنگ کردن دو مسیر اصلی تولید انرژی متابولیسم هوازی فعالیت می کنند دخالت نماید، اما این که چگونه این عمل برای حفظ پایداری ژنوم بوده، کمتر روشن است و نشان داده شده بهبود متابولیسم هوازی توسط p53 که به عنوان یک سرکوب کننده تومور عمل می کند، ممکن است راهبردهای پیشگیری از سرطان را ارائه دهد (۹). از جمله علل اصلی بروز سرطان ها می توان به تأثیر عوامل محیطی در ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی مسئول بروز بدخیمی ها اشاره کرد و یکی از بافت هایی که در معرض بسیاری از عوامل ایجاد کننده سرطان قرار دارد پوست می باشد. پوست در معرض عوامل متعددی از جمله دود، میکروارگانیزم ها و یا انواع اشعه ها مانند اشعه ماوراء بنفش و ... می باشد که می توانند باعث ایجاد

پاسخ‌های بیولوژیکی شده و از طریق تولید گونه‌های اکسیژن فعال منجر به آسیب پوست شوند (۱۰).

از طرفی دیگر، سمیت گونه‌های (Reactive Oxygen Species) ROS اکسیژن فعال عوامل اصلی دخیل در سرطان، پیری، بیماری‌های قلبی، آسیب‌های سلولی کبد و سایر اندامها می‌باشد. مطالعات نشان دهنده افزایش سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) در خون بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد طبیعی می‌باشد. به عبارتی گونه‌های فعال سبب افزایش بیان عناصر مسئول آنتی اکسیدانی و در نتیجه افزایش آنزیمهای SOD و GPX می‌شود. در مقابل این عوامل، آنتی اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که به مهار بسیاری از واکنش‌های اکسیداسیون که توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند، کمک نموده و بدین وسیله آسیب وارده به سلول‌ها و بافت‌ها را مهار کرده یا به تأخیر می‌اندازند. از جمله مکانیسم‌های عملکردی آن‌ها واکنش جمع‌آوری گونه‌ای رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌باشد (۱۱). شواهد گسترده‌ای برای استفاده از آنتی اکسیدان‌ها در سرطان وجود دارد (۱۲). ارزش پتانسیلی آنتی اکسیدان‌ها، محققان را بر آن داشته تا به جستجوی ترکیب‌های طبیعی با فعالیت آنتی اکسیدانی بالا و سمیت کم بپردازند. مطالعات اخیر نشان داده که تعدادی از محصولات گیاهی شامل: پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، کورکومین‌ها، ترپن‌ها و انواع عصاره‌های گیاهی، فعالیت آنتی اکسیدانی 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 سرطانی مهار شده‌اند. توانایی القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و توقف تکثیر این سلول‌ها موضوع بسیاری از تحقیقات ایمونوفارماکولوژی می‌باشد. از جمله علل اصلی بروز سرطان‌ها می‌توان به تأثیر عوامل محیطی در ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی مسئول بروز بدخیمی‌ها اشاره کرد. فرآورده‌های طبیعی به ویژه گیاهان دارای پتانسیل بالایی برای ساخت ترکیبات دارویی می‌باشند (۱۶، ۱۷). آناناس با نام علمی *comosus Ananas* و نام انگلیسی *pineapple* متعلق به خانواده برومولیاسه وزیر خانواده برومولوئیده می‌باشد. این میوه یکی از پرطرفدارترین میوه‌های استوایی است

پوست در معرض عوامل متعددی از جمله دود، میکروارگانیسم‌ها و یا اشعه ماوراء بنفش که می‌توانند باعث ایجاد پاسخ‌های بیولوژیکی شده و از طریق تولید گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) منجر به آسیب پوست شوند در مقابل این عوامل، آنتی اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که به مهار بسیاری از واکنش‌های اکسیداسیون که توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند، کمک نموده و بدین وسیله آسیب وارده به سلول‌ها و بافت‌ها را مهار کرده یا به تأخیر می‌اندازند. از جمله مکانیسم‌های عملکردی آن‌ها واکنش جمع‌آوری گونه‌ای رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌باشد (۱۴). شواهد گسترده‌ای برای استفاده از آنتی اکسیدان‌ها در سرطان وجود دارد. ارزش پتانسیلی آنتی اکسیدان‌ها، محققان را بر آن داشته تا به جستجوی ترکیب‌های طبیعی با فعالیت آنتی اکسیدانی بالا و سمیت کم بپردازند (۱۵). مطالعات اخیر نشان داده که تعدادی از محصولات گیاهی شامل: پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، کورکومین‌ها، ترپن‌ها و انواع عصاره‌های گیاهی، فعالیت آنتی اکسیدانی 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 سرطانی مهار شده‌اند. توانایی القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و توقف تکثیر این سلول‌ها موضوع بسیاری از تحقیقات ایمونوفارماکولوژی می‌باشد. از جمله علل اصلی بروز سرطان‌ها می‌توان به تأثیر عوامل محیطی در ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی مسئول بروز بدخیمی‌ها اشاره کرد. فرآورده‌های طبیعی به ویژه گیاهان دارای پتانسیل بالایی برای ساخت ترکیبات دارویی می‌باشند (۱۶، ۱۷). آناناس با نام علمی *comosus Ananas* و نام انگلیسی *pineapple* متعلق به خانواده برومولیاسه وزیر خانواده برومولوئیده می‌باشد. این میوه یکی از پرطرفدارترین میوه‌های استوایی است

(۱۸). از نظر ترکیبات شیمیایی در هر صد گرم قسمت قابل مصرف میوه رسیده وخام به صورت متوسط: ۸۵ گرم آب، ۰.۴ گرم پروتئین، ۰.۲ گرم چربی، ۱۳ گرم مواد قندی، ۱۷ میلی گرم کلسیم، ۸ میلی گرم فسفر، ۰.۵ میلی گرم آهن، ۱ میلی گرم سدیم، ۱۴۶ میلی گرم پتاسیم، ۰.۰۹ میلی گرم تیامین، ۰.۰۳ میلی گرم ریبوفلاوین، ۰.۲ میلی گرم نیاسین، آنزیم برومیلین، وانیلین، اسیدهای آزاد آلی، ۱۷ میلی گرم ویتامین C، ۷۰ واحد بین المللی ویتامین A، B و B2 وجود دارد. آنزیم برومیلین به دست آمده از عصاره آناناس به صورت گسترده در طب سنتی استفاده می شود این ماده علاوه بر این موارد، دارای فعالیت هایی نظیر تنظیم کننده سیستم ایمنی، اثرات ضد التهابی و اثرات ضد سرطانی است. (۱۹) رئیسی 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 (۲۰). با توجه به قابلیت های برومیلین و تعداد اندک مطالعات انجام شده پیرامون سلول های سرطانی، هنوز مطالعات بیشتری لازم است تا بتوان قابلیت های این ترکیب را بررسی کرد. از اصلی ترین مشکلاتی که ی درمان سرطان وجود دارد این است که داروهای درمانی در بافتها ی توموری باقی نمی مانند و داروها بافت های سالم بدن را نیز تحت تاثیر قرار می دهند (۲۱) درمان های مختلفی که امروزه برای سرطان وجود دارد مثل پرتودرمانی و یا سایر داروهای رایج، همگی برای سلول های سالم بدن نیز سمی هستند و علاوه بر هزینه های بالا عوارض جانبی بالایی دارند (۲۲). بنابراین احساس می شود که نیاز مبرمی به روش های جدید برای درمان سرطان به عنوان روش های درمانی هدفمند سرطان وجود دارد که بتواند جایگزین خوبی برای روش های شیمی درمانی فعلی باشد (۲۳). لذا در این مطالعه در نظر است تمرین مقاومتی و مصرف عصاره آناناس بر بیان ژن P53 بافت تومور و حجم تومور موش های مبتلا به سرطان ملانوما گزارش گردد تا شاید بتوان از اثر بخشی و نقش آنتی

اکسیدانی و ضد التهابی آناناس در کنار طراحی برنامه ورزشی برای سرطانی ها استفاده کرد. امید است نتایج حاصل از این پژوهش در علوم پزشکی و ورزشی پس از مطالعات انسانی مشابه به عنوان راهی نجات بخش در بهبود عوارض ناشی از سرطان عوارض آن و آسیب های بافتی ناشی از آن مورد استفاده قرار گیرد.

روش شناسی پژوهش:

جامعه و نمونه آماری:

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش های نر C57BL/6 تشکیل می دادند که از بین آنها، ۳۲ سر موش نر شش تا هشت هفته ای با دامنه وزنی ۱۲ تا ۱۴ گرم که با ترازوی دیجیتالی اندازه گیری شد و در هنگام خرید در همین محدوده وزنی بودند به عنوان نمونه آماری از انستیتو پاستور خریداری و به اتاق نگهداری حیوانات آزمایشگاه علوم پزشکی بقیه اله تهران منتقل شدند. موش ها به صورت تصادفی و تعداد مساوی شامل هشت سر موش در هر گروه قرار گرفتند. عصاره گیری از میوه آناناس:

میوه آناناس تهیه شده و پس از شسته شدن به حلقه های نازک برش زده شد و در مکان سایه روشن به دور از آلودگی خشک شد. سپس از میوه خشک شده، پودر یکنواخت تهیه می گردد. جهت عصاره گیری میوه آناناس از روش خیساندن در دمای ۴ درجه سانتیگراد استفاده می شود. به ازای هر ۷ گرم پودر آناناس، ۵۰ میلیلیتر اتانول ۸۵٪ استفاده شد. عصاره حاصله در بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شده تا حلال به طور کامل تبخیر می شود. عصاره خشک بدست آمده تا زمان استفاده، درون یخچال نگهداری می شود. به طور خلاصه پس از توزین میوه آناناس، پوست آن جدا، پارانیشیم آن خارج شده و با استفاده از دستگاه مخلوط کن، مخلوط یکنواخت و همگنی تهیه نموده، پس از سانتریفوژ مخلوط با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، فیبره را در قسمت پایینی و عصاره در قسمت بالایی لوله قرار می گیرد.

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 به منظور ریکاوری، موش ها در یک قفس جداگانه و در یک اتاق با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. محل بخیه جراحی با بتادین ضدعفونی گردید. همچنین موش ها به صورت هفتگی جهت بررسی روند رشد تومور مورد معاینه قرار می گرفتند. نگهداری موش ها در قفس های پلی کربنات مخصوص و تعداد چهار سر موش در هر قفس صورت گرفت. به منظور آشنایی با محیط جدید، موش ها به مدت یک هفته در آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از آشناسازی، موش ها به صورت تصادفی و باتوجه به همگن سازی وزن به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. پس از یک هفته آشناسازی با محیط، سلول های سرطانی به موش ها تزریق و یک هفته پس از تزریق سلول های سرطانی که بافت تومور در جایگاه تزریق سلول های سرطانی قابل لمس و مشاهده بود، پروتکل پژوهشی آغاز شد و در انتهای شش هفته برنامه تمرینی، خونگیری، بافت برداری و اندازه گیری وزن موش و حجم تومور انجام گرفت. (۲۴، ۲۵)

اندازه گیری حجم تومور
همه حیوانات در ابتدا و به صورت هفتگی با استفاده از ترازو وزن شدند. حجم تومور در دو بعد اندازه گیری شد. بزرگترین بعد تومور به عنوان طول (L) تومور در نظر گرفته شد و بعد دیگر (در زاویه ۹۰ درجه) به عنوان عرض (W) در نظر گرفته شد. پس از پیدایش تومور، هر هفته یکبار طول و عرض تومور توسط کولیس دیجیتال اندازه گیری گردید و با استفاده از فرمول محاسباتی حجم تومور $[V=\pi/6 (w \times L^2)]$ میزان آن تعیین شد (۲۶).

گروه بندی و اجرای پروتکل پژوهشی:
به منظور آشنایی با محیط جدید، موش ها به مدت یک هفته در آزمایشگاه نگهداری می شوند. پس از آشناسازی، موش ها با نردبان مقاومتی به صورت تصادفی و باتوجه به

این عصاره با آب مقطر رقیق شده و عصاره ۲۰ درصد مورد استفاده قرار خواهد گرفت. نرمال سالین و عصاره آناناس (۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در وزن بدن) به وسیله گاوژ به موش های مورد نظر خوراندن خواهد شد (۲۳).
کشت رده سلولی:

رده 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 آنتی بیوتیک پنی سیلین استرپتومایسین استفاده شد. در ابتدا به منظور استخراج بافت توموری از موش های استوک، با روش نخاعی موش ها کشته شدند. سپس ناحیه 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 میلی متری تقسیم شد. در حین قطعه کردن بافت توموری چربی ها و عروق اضافه از تومور جداسازی شده و بافت توموری به صورت خالص قطعه قطعه شد. قطعات توموری به یک پلیت استریل حاوی سرم فیزیولوژی منتقل شدند تا برای جراحی مورد استفاده قرار بگیرند.

برای شروع جراحی ابتدا موش ها با مخلوط داروی زایلین 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 ۴۰ میکرولیتر زایلین و ۸۰ میکرولیتر کتامین همراه با ۳۸۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی استریل بود که از این ترکیب مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به هر موش به صورت صفاقی تزریق شد). پس از بیهوشی کامل، موش ها از ناحیه پهلو بر روی تخته جراحی قرار گرفتند و با کمک پنس و قیچی استریل در ناحیه پهلو شیار ایجاد شده یک برش کوچک ایجاد شد، سپس با کمک پنس کانال باریکی در زیر پوست ایجاد شد. در مرحله بعدی به قطعه از بافت توموری استخراج شده

همگن-سازی وزن به چهار گروه ، کنترل ،تمرین مقاومتی، آناناس و گروه تمرین مقاومتی +آناناس تقسیم می شوند.

زمانبندی تمرینی :

موش ها در هفته دوم آزمایشگاه برای اجرای پروتکل های پژوهشی تمرین و گاواژ آماده می شوند. موش ها طی سه جلسه در هفته با نردبان مقاومتی تمرین می کنند. تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان (طول ۱ متر، شیب ۸۵ درجه و ۲ سانتیمتر فضای بین هر پله) می باشد که سه جلسه در هفته و به مدت شش هفته انجام می گیرد. هفته اول تمرین بدون وزنه و در هفته دوم با ۱۵ درصد وزنه تمرین انجام می شود و در هفته سوم در اولین جلسه تمرین و به منظور انجام تکرار اول، ۲۵ درصد وزن بدن موش ها به دشمنان وزنه متصل می شود و به ترتیب ۵۰ درصد سپس ۷۵ و ۱۰۰ درصد برای هر تکرار افزایش می یابد. اگر موش قادر به حمل

بار بود، با هر تکرار موفق، ۳ گرم به کیسه حاوی وزنه اضافه شده تا حیوان به واماندگی برسد. وزنه حمل شده قبل از واماندگی، به عنوان وزنه حداکثر، برای طراحی پروتکل جلسه بعد استفاده می شود. بنابراین برای جلسه های بعدی تمرین به ترتیب ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ درصد وزنه حداکثر جلسه قبل و به ازای هر تکرار موفق ۳ گرم اضافه در نظر گرفته می شود. با این تفاوت که بعد از واماندگی هر موش با ۷۰ درصد حداکثر وزنه به تمرین ادامه می دهد، به طوریکه هر جلسه تمرین شامل حداقل ۴ و حداکثر ۸ تکرار است. بین هر تکرار نیز ۲ دقیقه استراحت وجود دارد که با رسیدن موش به بالای نردبان این استراحت شروع می شود . پس از اتمام استراحت ، وزنه مورد نظر به کیسه متصل به دم موش اضافه می شود و موش به پایین نردبان انتقال می یابد. در صورت نیاز نیز دم موش ها به منظور ایجاد انگیزگی لمس می شود. (۲۷).

جدول ۱- جدول زمانبندی تمرینات.

هفته	تعداد جلسه	شیب	درصد وزنه	تکرار	استراحت بین تکرار(دقیقه)
اول	۳	۸۵ درجه	۰	۴	۲
دوم	۳	۸۵ درجه	۱۵	۴	۲
سوم	۳	۸۵ درجه	۲۵	۶	۲
چهارم	۳	۸۵ درجه	۵۰	۶	۲
پنجم	۳	۸۵ درجه	۷۵	۸	۲
ششم	۳	۸۵ درجه	۱۰۰	۸	۲

روش بافت برداری :

در انتهای پروتکل های برنامه تمرینی و عصاره دهی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، خونگیری، بافت برداری و اندازه گیری وزن موش و حجم تومور انجام گرفت. بافت تومور نیز به منظور اندازه گیری

بیان ژن جدا و بلافاصله توسط ازت مایع به فریزر منفی ۸۰ منتقل شد.

روش بیان ژن:

مقداری از بافت تومور برای انجام مراحل ریل تایم درون RNA later قرار داده شد و سپس در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در مرحله بعد RNA با

ساخته شد و به فریزر منفی ۲۰ انتقال داده شد. سپس برای بررسی بیان ژن P53، پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش توسط نرم افزار Primer3 طراحی شد و توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

استفاده از کیت RiboEx Total RNA isolation (GeneAll) solution 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، با استفاده از کیت FIRE Script RT cDNA Synthesis (Solis BioDyne)

جدول ۲: الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Gene	Primer	Product size
p53-F	CCCAGGGAGTGCAAAGAGA	133
p53-R	CAGCTCTCGGAACATCTCGA	

Gene Q real-time PCR cyclyer (QIAGEN) طبق برنامه مورد نظر که شامل یک مرحله Enzyme Activation به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و ۴۰ سیکل شامل Denaturation به مدت ۱۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، -Annealing Extention به مدت ۳۰ ثانیه بر روی تنظیم و اجرا شد (جدول ۳). در نهایت محصولات PCR به منظور بررسی اختصاصیت بر روی ژل آگاروز ۱ درصد بررسی شد

بیان ژن P53 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 میکرو لیتر از cDNA ساخته شده به ویال اضافه گردید و در نهایت به آن ۶ میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد تا حجم مواد به ۲۰ میکرولیتر برسد. سپس نمونه ها در دستگاه Rotor-

جدول ۳ - مراحل دمایی ریل تایم بیان ژن P53

سیکل	دما	زمان	مراحل
1	95	15 دقیقه	Enzyme Activation
40	94	10 ثانیه	Denaturation
	60	30 ثانیه	Extension-Annealing

ویلک جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده ها و آزمون لوین برای تجانس واریانس ها و از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بن فرونی جهت مقایسه تفاوت بین گروه ها و از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی وشاخص تعیین

روش های آماری تجزیه و تحلیل داده ها

داده های متغیر ها با استفاده از نرم افزار SPSS22 تجزیه و تحلیل شدند. برای توصیف داده ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. آزمون شاپیرو

با کد اخلاق 1400.050 IR.IAU.YAZD.REC در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد واحد یزد تأیید شد.

نتایج

سطوح متغیرهای مورد بررسی شامل وزن موش ها ، حجم تومور، بیان ژن P53 بافت تومور ، موش ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار در جدول ۴ گزارش شده است.

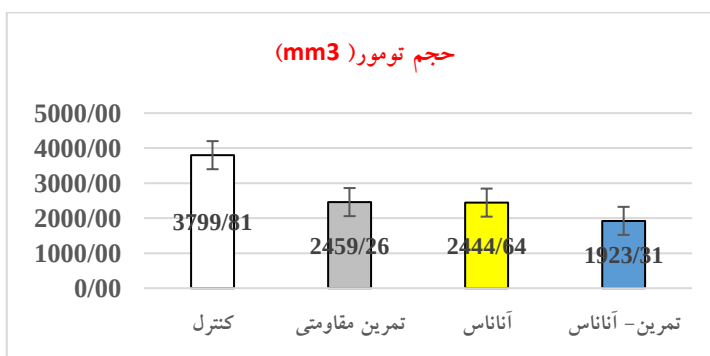
اندازه اثر جهت مقایسه میزان تاثیرهریک از متغیر های مستقل استفاده گردید. سطح معنی داری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

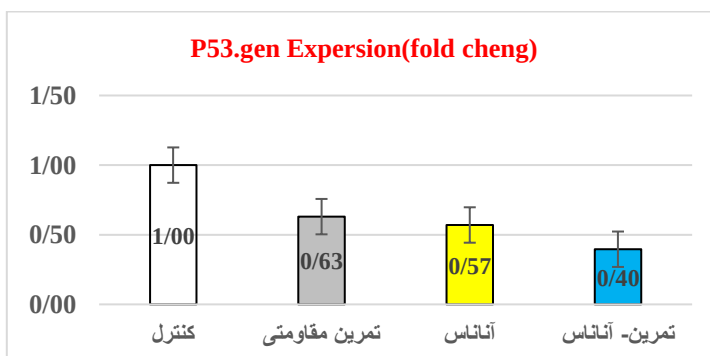
اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در تمام مراحل اجرای پروتکل ها به منظور کمتر آسیب دیدن حیوانات با نظارت و دخالت مستقیم استاد راهنما انجام شد. این پژوهش

جدول ۴ جدول توصیفی سطوح متغیرهای مورد بررسی در گروه های پژوهش (انحراف معیار $\pm$ میانگین)

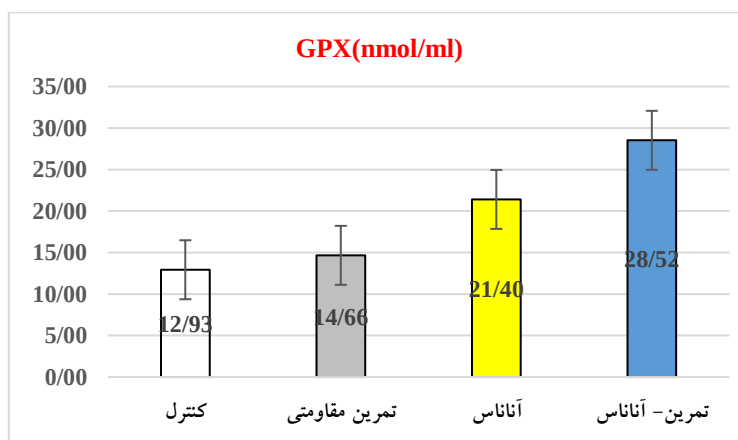
گروه	وزن موش ها (گرم)	حجم تومور (میلی متر مکعب)	بیان ژن P53 (Fold cheng)	GPX(nmol/ml)	MDA(nmolg/ml)
کنترل	15.81 $\pm$ 1/10	3799.81 $\pm$ 81	1 $\pm$ 0	12.93 $\pm$ 3.85	9.97 $\pm$ 2.80
تمرین مقاومتی	15.41 $\pm$ 1.51	2459.26 $\pm$ 26	0.63 $\pm$ 0.29	14.66 $\pm$ 0.88	4.32 $\pm$ 0.32
آناناس	16.51 $\pm$ 0.57	2444.64 $\pm$ 64	0.57 $\pm$ 0.25	21.40 $\pm$ 0.75	3.90 $\pm$ 0.42
تمرین - آناناس	16.21 $\pm$ 1.48	1923.31 $\pm$ 90.54	0.40 $\pm$ 0.37	28.52 $\pm$ 5.09	2.69 $\pm$ 0.79



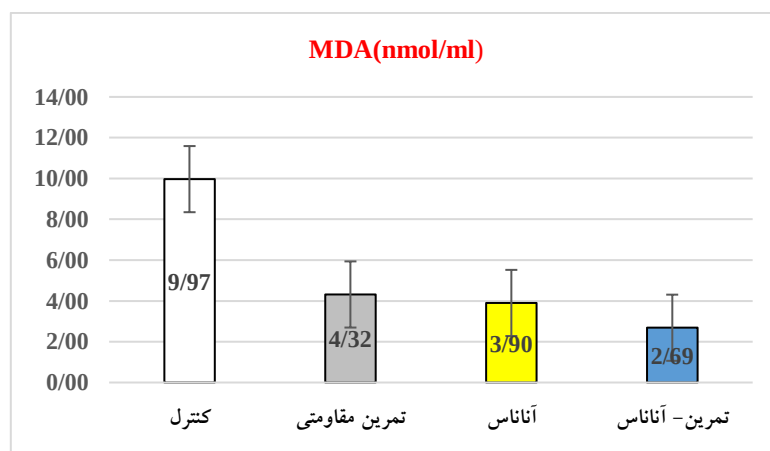
نمودار ۱- تغییرات حجم تومور موش های گروه های مختلف را نشان می دهد.



نمودار ۲- تغییرات بیان ژن P53 موش های گروه های مختلف را نشان می دهد.



نمودار ۳- تغییرات غلظت سرمی GPX موش های گروه های مختلف را نشان می دهد.



نمودار ۴- تغییرات غلظت سرمی MDA موش های گروه های مختلف را نشان می دهد.

تحلیل استنباطی یافته ها :

جدول ۵ نتایج آزمون تحلیل واریانس گروه ها را نشان می دهد. همان طور که از نتایج آزمون تحلیل واریانس مشخص است در متغیرهای مختلف بین گروه ها تفاوت وجود دارد.

جدول ۵- نتایج آزمون تحلیل واریانس گروه ها

متغیر	F	سطح معنی داری
حجم تومور	۴.۹۲	۰/۰۱۴
ژن P53	۴۷۰.۴	۰/۰۲
GPX	۴۴.۲۲	۰/۰۰۰۱
MDA	۴۲.۲۲	۰/۰۰۰۱

جدول ۶- نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و نیز اندازه اثر گروه ها .

متغیر	Group	Group	F	Sig.	Effect.Size
حجم تومور (میلی متر مکعب)	کنترل	مقاومتی	۶.۲۸	۰/۰۲۴	۰/۲۹۵
		آناناس	۶.۴۸	۰/۰۲۲	۰/۳۰۲
		مقاومتی + آناناس	۱.۲۱	۰/۰۲۹	۰/۰۷۵
بیان ژن P53 (Fold cheng)	کنترل	مقاومتی	۴.۸۵	۰/۰۴۴	۰/۲۴۴
		آناناس	۷.۲۲	۰/۰۱۷	۰/۳۲۵
		مقاومتی + آناناس	۰.۶۳	۰/۴۴	۰/۰۴۰
GPX	کنترل	مقاومتی	۸.۲۴	۰/۰۱۲	۰/۳۵۵
		آناناس	۵۲.۴۴	۰/۰۰۰۱	۰/۷۷۸
		مقاومتی + آناناس	۳.۰۵	۰/۱۰	۰/۱۶۹
MDA	کنترل	مقاومتی	۲۳.۹۴	۰/۰۰۰۱	۰/۶۱۵
		آناناس	۳۰.۰۹	۰/۰۰۰۱	۰/۶۶۷
		مقاومتی + آناناس	۱۰	۰/۰۰۶	۰/۴۰۰

بحث

یافته های پژوهش حاضر با عنوان تغییرات بیان ژن سرکوبگر تومور (TP53) بافت کبد و شاخص های اکسیداتیو متعاقب شش هفته تمرین مقاومتی و مصرف عصاره آناناس در موش های مبتلا به سرطان ملانوما نشان داد که تمرین مقاومتی و عصاره آناناس منجر به کاهش وزن و کاهش معنی دار حجم تومور و کاهش بیان ژن P53 در گروه های تجربی شد. نتایج وزن موش ها نشان داد که وزن موش ها در گروه های تجربی نسبت به کنترل کاهش داشت که در گروه تمرین - آناناس میزان کاهش وزن بیشتر بود. همچنین نتایج نشان داد حجم تومور در گروه های تجربی کاهش معنی دار داشته ولی تمرین - عصاره آناناس حجم تومور موش های مبتلا به سرطان ملانوما را بیشتر کاهش داد و شاخص اندازه اثر عصاره آناناس بیشتر بود. همچنین نتایج نشان داد غلظت سرمی GPX در گروه های تجربی افزایش معنی دار داشته ولی تمرین - عصاره آناناس غلظت سرمی GPX موش های مبتلا به سرطان ملانوما را بیشتر افزایش داد و شاخص اندازه

اثر تمرین و عصاره آناناس معنی دار بود که اندازه اثر عصاره آناناس بیشتر بود. همچنین نتایج نشان داد غلظت سرمی MDA در گروه های تجربی کاهش معنی دار داشته و تمرین - عصاره آناناس غلظت سرمی GPX موش های مبتلا به سرطان ملانوما را بیشتر کاهش داد و شاخص اندازه اثر تمرین و عصاره آناناس معنی دار بود که اندازه اثر عصاره آناناس بیشتر بود. باکورا و همکاران (۲۰۰۷) در رابطه با اثرگذاری مثبت تمرینات 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 معنادار حجم تومور در رت های حامل تومور می شود. علاوه بر این، تمرینات ورزشی با افزایش معنادار بقا در مقایسه با گروه کنترل تومور همراه بود. این نتایج نشان می دهد که انواع مختلف تمرینات ورزشی میتواند نقش موثری در سرکوب رشد تومور داشته باشد. (۲۸). همه این یافته ها بر اثرات ضدالتهابی تمرینات ورزشی در موش های مبتلا به سرطان تاکید دارد که می تواند به کاهش معنادار حجم تومور

نتیجه می تواند از رشد تومور جلوگیری کند. درک نقش p53 در تومور و سلولهای ایمنی به توسعه روشهای درمانی کمک می کند تا بتوانند وضعیت پیشرفت سرطان را در مقایسه با اکثر بافتهای طبیعی کنترل کنند. شایعترین ضایعه ژنتیکی در سرطان انسان از بین رفتن یا جهش ژن مهارکننده تومور TP53 است و جهش ژنتیکی TP53 منجر به افزایش شدید خطر ابتلا به سرطان می شود. P53 در پاسخ به استرس فعال می شود و می تواند باعث از بین رفتن دائمی سلولهای سرطانی نوپا از طریق القا اشکال مختلف مرگ سلولی یا پیری شده و توسعه تومور را کاهش دهد. در واقع، سلولهای تومور فاقد p53 می توانند بی ثباتی ژنومی و سیگنالینگ سرطانی را که از ویژگی های بدخیم هستند تحمل کنند. جهش P53 همچنین می تواند باعث توقف چرخه سلولی برگشت پذیر شود، به سلولهای تومور اجازه می دهد که پس از برطرف شدن آسیب یا استرس، تکثیر را از سر بگیرند. از دست دادن عملکرد p53 در سلول های توموری می تواند این سلول ها را در برابر انواع خاصی از استرس متابولیکی آسیب پذیرتر کند. بسیاری از سرطان ها بیانگر سطح بالایی از نسخه های جهش یافته p53 هستند که به طور کلی توانایی جلوگیری از رشد سلول را از دست می دهند، اما در برخی موارد توابع بقا را حفظ کرده و فعالیت تومور زاپی را بدست می آوریم. به طور کلی، فعالیت های بی شماری که برای p53 شرح داده شده است، توانایی تنظیم انواع متنوعی از مسیرهای بیولوژیکی را نشان می دهد. مطالعات حاکی از آن است که این عملکردهای p53 فقط برای تومور تکامل نمی یابد. نقش p53 در تکامل، حفظ سلول های بنیادی و هموستاز بافتی و محافظت از یکپارچگی سلول های زایا توصیف شده است، در حالی که p53 همچنین می تواند به آسیب های غیر سرطانی مانند بیماری تخریب عصبی و ایسکمی کمک کند. با این وجود، بارزترین نتیجه از دست دادن یا جهش p53 در موش و انسان باعث افزایش توسعه سرطان است. روشن است که

نیز منجر شود. مورفی (۲۰۱۱) کاهش معنی دار حجم تومور را به دنبال تمرینات هوازی در موش های سرطانی به افت عوامل التهابی نسبت دادند گفته می شود که این کاهش التهاب، احتمالاً در اثر کاهش رهایش سایتوکاین ها از قبیل IL-6 در پاسخ به انقباض عضلانی منظم است (۲۹). یافته های پژوهش حاضر موافق با یافته های مورفی (۲۰۱۱) بود و در هر دو پژوهش کاهش حجم تومور بعد از یک دوره تمرین استقامتی مشاهده شد و احتمالاً اگر طول مدت تمرین در پژوهش حاضر با مداخلات تغذیه ای همراه ادامه می یافت کاهش حجم تومور در گروه تمرین نیز شاید معنی دار می شد اما در گروه آناناس کاهش معنی دار بوده و تاثیر بیشتری بر حجم تومور داشته که تاثیر خود را در گروه تعاملی تمرین - آناناس نشان داده و حجم تومور را نسبت به تمرین بیشتر کاهش داده است. البته تومور مورد بررسی در پژوهش حاضر متفاوت از پژوهش های فوق بود و مدت زمان دوره تمرین در پژوهش حاضر (شش هفته) به خاطر نوع سرطان و رده سلولی آن که بسیار تهاجمی بود و با توجه به رشد تومور امکان ادامه کار وجود نداشت که نشان می دهد حتی دوره کوتاه مدت تمرین ورزشی نیز می تواند منجر به کند شدن روند رشد تومور شود.

نتایج پژوهش حاضر همچنین نشان داد بیان ژن سرکوبگر تومور P53 در گروههای تجربی کاهش معنی دار داشت که درگروه تمرین و تمرین-آناناس بیشتر بود. اهمیت عملکردهای خودمختار سلولهای سرطانی سرکوبگر تومور p53 (رمزگذاری شده توسط TP53) در بسیاری از مطالعات مشخص شده است، اما اکنون مشخص شده است که وضعیت p53 سلول سرطانی نیز تأثیر بسزایی در پاسخ ایمنی دارد. از دست دادن یا جهش p53 در سرطان ها می تواند بر جذب و فعالیت سلول های میلوئیدی و T تأثیر بگذارد، سیستم ایمنی بدن را تضعیف و پیشرفت سرطان را افزایش می دهد. P53 همچنین می تواند در سلولهای ایمنی نقش داشته باشد، در

عملکرد اصلی p53 در انسان محافظت در برابر پیشرفت بدخیمی است اما سایر اعمال p53، توانایی تنظیم پاسخ های ایمنی و نقش آنها در آسیب شناسی بیماری های غیرسرطانی، از جمله ترمیم زخم، ترمیم آسیب و برطرف شدن آسیب یا کنترل عفونت ویروسی است. همچنین مکانیسم هایی که توسط P53 تنظیم می شود تنفس میتوکندریایی را تنظیم می کند و نیز به حفظ ثبات ژنومی کمک می کند. مطالعات نشان می دهد بهبود متابولیسم هوازی توسط P53 که به عنوان یک سرکوب کننده تومور عمل می کند ممکن است راهبردهای پیشگیری از سرطان در آینده را ارائه دهد. به طور کلی، نقش p53 در ملانوم پیچیده است، که شامل سرکوب مستقیم تومور و تعامل با مسیرهای متابولیکی و سیگنالینگ مختلف است که بر رشد تومور و پاسخ به درمان تأثیر می گذارد. (۳۰،۹).

تمرین مقاومتی (RT) با کاهش التهاب سیستمیک مرتبط است که می تواند در زمینه سرطان مفید باشد. التهاب مزمن یک عامل شناخته شده در پیشرفت سرطان است و RT ممکن است به کاهش این خطر کمک کند (۳۱). ملانوما تومور بدخیمی است که از تغییر شکل و تکثیر ملانوسیت ها که به طور طبیعی در لایه سلولی پایه اپیدرمیس قرار دارند، ایجاد می شود. در حالی که مطالعات خاص در مورد RT و ملانوما کمیاب است، ورزش برای افزایش اثربخشی درمان های سرطان و بهبود نتایج کلی سلامت برای بیماران سرطانی، به طور بالقوه از جمله مبتلایان به ملانوم، پیشنهاد می شود. فعالیت بدنی از جمله تمرینات مقاومتی با کاهش بروز و عود سرطان های مختلف از جمله ملانوما مرتبط است. ممکن است علائم سرطان مانند تهاجم، متاستاز و متابولیسم انرژی را تعدیل کند (۳۲).

از سوی دیگر بررسی ترکیبات موجود در عصاره های گیاهی و تایید اثرات ضدسرطانی ها آن محققان بر آن داشته تا توجه ویژه به این ترکیبات در جهت درمان گروهها ی

متفاوت سرطانی داشته باشند. طبق تحقیقاتی که Michael و همکاران (۲۰۰۷) روی خواص آنتی اکسیدانی آناناس بر روی ملانوما انجام دادند مشخص شد که برومیلین جزء اصلی فعال در میوه آناناس بوده و از دسته آنزیم های پروتئولیتیک محسوب می شود. پژوهش این محقق نشان دهنده بازداري واضح برومیلین از تکثیر سلولی است (۱۲). 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 میوه آناناس بودند، پاسخ مهاری تاخیر رشد القای اتوفازی را نشان دادند که این مساله به علت نقش برومیلین بر تنظیم فسفریلاسیون خارج سلولی است (۳۳). از آنجا که ترکیبات گیاهی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی عوارض جانبی کمتری دارند لذا شناسایی راهبرد های جدید برای استفاده از گیاهان دارویی بعنوان جایگزین مناسبی بجای داروهای شیمیایی باشد در کنار فعالیت ورزشی مناسب می تواند کمک شایانی به بهبود بیماران سرطانی کند

کاهش بیان ژن TP53 ممکن است در نگاه نخست متناقض با نقش کلاسیک این ژن به عنوان سرکوبگر تومور باشد، اما مطالعات پیشین نشان داده اند که در بسیاری از سرطان ها، از جمله ملانوما، فرم های جهش یافته یا پایداری غیرعادی p53 می تواند منجر به مقاومت نسبت به آپوپتوز شود (۳۴). در چنین شرایطی، کاهش بیان این ژن در بافت کبد می تواند به نفع کاهش بقای سلول های سرطانی تفسیر شود.

از نظر استرس اکسیداتیو، نتایج حاکی از آن بود که تمرین مقاومتی و برومیلین هر دو باعث افزایش فعالیت آنزیم GPX به عنوان آنتی اکسیدان کلیدی شدند، در حالی که سطح MDA، نشانگر پراکسیداسیون لیپید، به طور معنی داری کاهش یافت. اثر عصاره آناناس در هر دو شاخص از تمرین

تنها قوی تر بود، هرچند گروه ترکیبی بیشترین تغییرات را نشان داد.

بروملین، ترکیب فعال موجود در آناناس، نقش مهمی در تحریک تولید ROS و القای اتوفاژی در سلول‌های سرطانی دارد و با این مکانیسم‌ها باعث محدود شدن رشد آن‌ها می‌شود (۳۵). از سوی دیگر، تمرین مقاومتی نیز با آزادسازی مایوکاین‌هایی نظیر IL-6 و SPARC، می‌تواند مسیرهای التهابی و تکثیر تومور را مهار کند (۳۶). این مایوکاین‌ها نقش حیاتی در تنظیم مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول‌ها، کاهش التهاب سیستمیک و بهبود پاسخ‌های ایمنی دارند.

افزون بر این، مطالعات انسانی نیز اثرات مشابهی از فعالیت بدنی گزارش کرده‌اند. به‌طور خاص، مطالعه‌ی Delrieu و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که فعالیت بدنی منظم در بیماران مبتلا به سرطان پستان متاستاتیک موجب بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو از جمله افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح MDA می‌شود. این شواهد، یافته‌های حاضر در مدل حیوانی را تقویت می‌کنند و نشان می‌دهند که فعالیت بدنی می‌تواند به‌عنوان یک مداخله مکمل مؤثر در مدیریت سرطان از طریق بهبود وضعیت اکسیداتیو در نظر گرفته شود. با توجه به نقش مهم استرس اکسیداتیو در پیشرفت سرطان، بهبود تعادل میان تولید ROS و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند یکی از مکانیسم‌های کلیدی در کنترل تومور باشد. تمرین مقاومتی همراه با ترکیبات زیست‌فعال نظیر بروملین می‌تواند با کاهش آسیب اکسیداتیو، تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، و تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با بقای سلولی، مسیرهای مرگ سلولی را به نفع نابودی سلول‌های توموری سوق دهد (۳۷). مطالعات دیگر نشان داد که درمان خوراکی بروملین توانست التهاب را در یک مدل موشی آسمی کاهش دهد و از ادبیات موجود مبنی بر اینکه آنزیم‌های خوراکی برای درمان بیماری‌های التهابی مؤثر هستند، پشتیبانی می‌کند. در این مطالعه اثر درمان خوراکی

بروملین را بر سیتوکین‌های (IL-5, IL-13) Th2 و زیرمجموعه‌های لنفوسیت‌ها (CD4 β , CD8 β و CD19 β) بررسی شد. درمان با بروملین درصد سلول‌های T CD8 β و سلول‌های B CD19 β را در غلظت‌های BAL و IL-13 کاهش داد. CD19 β سلول‌های B می‌توانند به عنوان سلول‌های ارائه دهنده آنتی ژن اولیه در شرایط Th2 مانند آسم عمل کنند. کاهش ناشی از بروملین در این زیرمجموعه همچنین ممکن است التهاب ناشی از سلول‌های T را کاهش دهد و در نتیجه پیشرفت بیماری آلرژیک را مهار کند. این نتایج نشان داد که درمان خوراکی با بروملین اثر درمانی مفیدی در این مدل موشی آسمی داشته است و بروملین همچنین ممکن است در بیماری‌های انسانی مؤثر باشد. (۳۸،۳۹).

به طور کلی، در حالی که شواهد مستقیم در مورد اثرات تمرینات مقاومتی بر ملانوما هنوز در حال ظهور است، ادبیات موجود از این ایده حمایت می‌کند که فعالیت بدنی می‌تواند تأثیر مثبتی بر نتایج سرطان داشته باشد. تحقیقات بیشتری برای روشن شدن این روابط به طور خاص برای ملانوما مورد نیاز است.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیب تمرین مقاومتی و عصاره آناناس می‌تواند با بهبود وضعیت اکسیداتیو و کاهش بیان ژن‌های پاتولوژیک، تأثیر مثبتی در کاهش رشد تومورهای بدخیم ایفا کند. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده از مدل‌های توموری مختلف، زمان‌های مداخله طولانی‌تر، و بررسی مسیرهای مولکولی دقیق‌تری استفاده شود تا ابعاد بیشتری از این اثرات روشن گردد.

تشکر و قدر دانی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری بود و با کد اخلاق IR.IAU.YAZD.REC.1400.050 در کمیته اخلاق

پزشکی دانشگاه آزاد یزد تایید شد. از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می شود.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله هیچ گونه تعارض منافی نداشتند.

فهرست منابع

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. doi:10.1158/1055-9965.EPI-15-0578
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. Levine AJ, Oren M. [The first 30 years of p53: growing ever more complex]. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(10):749-758.
4. Chang JR, Ghafouri M, Mukerjee R, Bagashev A, Chabrashvili T, Sawaya BE. [Role of p53 in neurodegenerative diseases]. *Neurodegener Dis.* 2012; 9(2):68-80.
5. Li T, Kon N, Jiang L, et al. [Tumor suppression in the absence of p53-mediated cell-cycle arrest, apoptosis, and senescence. *Cell*]. 2012; 149(6):1269-1283.
6. Höpker K, Hagmann H, Khurshid S, Chen S, Schermer B, Benzing T, Reinhardt HC. [Putting the brakes on p53-driven apoptosis]. *Cell Cycle.* 2012 Nov 15; 11(22):4122-8.
7. Borst JM, Frings-Dresen MH, Sluiter JK. [Prevalence and incidence of mental health problems among Dutch medical students and the study-related and personal risk factors: a longitudinal study]. *Int J Adolesc Med Health.* 2016; 28(4):349-355. doi:10.1515/ijamh-2015-0021
8. Yusoff MSB, Pa MNM, Rahim AFA. [Mental health of medical students before and during medical education: A prospective study]. *Journal of Taibah University Medical Sciences* 2013; 8(2): 86-92
9. Lago CU, Sung HJ, Ma W, Wang PY, Hwang PM. [p53, aerobic metabolism, and cancer]. *Antioxid Redox Signal.* 2011; 15(6):1739-1748.
10. 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.
11. Nokhbeh Zaeem Sh, Heydari Nasrabadi M, Salehi pour M. Effects of *Euclidean 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.
12. Michael A, Hedayati B, Dalglish 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.
13. Roussis IG, Lambropoulos I, Soulti K. [Scavenging Capacities of Some Wines and Wine Phenolic Extracts]. *Food Technology and Biotechnology* 2005; 43(4): 351-8.
14. 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.

15. 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. [Persian]

16. Michael A, Hedayati B, Dalglish 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.

17. Roussis IG, Lambropoulos I, Soulti K. Scavenging Capacities of Some Wines and Wine Phenolic Extracts. *Food Technology and Biotechnology* 2005; 43(4): 351-8.

18. 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.

19. Tysnes BB, Maurert HR, Porwol T, Probst B, Bjerkvig R, Hoover F. Bromelain Reversibly Inhibits Invasive Properties of Glioma Cells. *Neoplasia* 2001; 3(6): 469-79.

20. 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. [Persian].

21. Sinha R, Kim GJ, Nie S, Shin DM. Nanotechnology in Cancer Therapeutics: Bioconjugated Nanoparticles for Drug Delivery. *Mol Cancer Ther* 2006; 5(8): 1909-17.

22. 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

23. 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.

24. Khor 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.

25. Dashti A, Ebrahimi M, Hadjati J, Moazzeni S M. Identification and Characterization of Cancer Stem Cells in Mouse Malignant Melanoma. *Mjms*. 2014; 17 (2):27-37

26. 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.

27. Nourshahi, M., Babaei, A., Bigdeli, M., Ghasemi Beyrami, M. The Effect of Six Weeks of Resistance Training on Tumor Tissue VEGF and Endostatin in Mice with

Breast Cancer. *Journal of Sport Biosciences*, 2013; 5(2): 27-46.

28. 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.

29. 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.

30. Julianna Blagih, Michael D. Buck and Karen H. Vousden*.P53, cancer and the immune response. © 2020. Published by The Company of Biologists Ltd | Journal of Cell Science (2020) 133, jcs237453.

31. Calle MC, Fernandez ML. Effects of resistance training on the inflammatory response. *Nutr Res Pract*. 2010; 4(4):259-269.

32. Ceci, C., García-Chico, C., Atzori, M.G., Lacal, P.M., Lista, S., Santos-Lozano, A., Graziani, G., Pinto-Fraga, J. (2024). Impact of Physical Exercise on Melanoma Hallmarks: Current Status of Preclinical and Clinical Research. *Journal of Cancer*, 15(1), 1-19.

33. Bhui K, Tyagi S, Prakash B, Shukla Y. [Pineapple Bromelain Induces Autophagy, Facilitating Apoptotic Response in Mammary Carcinoma Cells]. *BioFactors* 2010; 36(6): 474-82.

34. Wang H, Dong Z, Liu J, Zhu Z, Najafi M. Mechanisms of Cancer-killing by

Quercetin; A Review on Cell Death Mechanisms. *Anticancer Agents Med Chem*. 2023;23(9):999-1012.

35. Chang TC, Wei PL, Makondi PT, Chen WT, Huang CY, Chang YJ. Bromelain inhibits the ability of colorectal cancer cells to proliferate via activation of ROS production and autophagy. *PLoS One*. 2019 Jan 18;14(1):e0210274.

36. Papadopetraki A, Maridaki M, Zagouri F, Dimopoulos MA, Koutsilieris M, Philippou A. Physical Exercise Restrains Cancer Progression through Muscle-Derived Factors. *Cancers (Basel)*. 2022 Apr 8;14(8):1892.

37. Delrieu L, Touillaud M, Pérol O, et al. Impact of Physical Activity on Oxidative Stress Markers in Patients with Metastatic Breast Cancer. *Oxid Med Cell Longev*. 2021; 2021:6694594. Published 2021 Jul 16.

38. Secor ER, Carson WF, Singh A, et al. Oral Bromelain Attenuates Inflammation in an Ovalbumin-induced Murine Model of Asthma. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2008; 5(1):61-69.

39. Alfitri, Nur Mawaddha, Efrida Pima Sari Tambunan, and Syukriah Syukriah. "The Effect of Pineapple (Ananas comosus L.) Fruit Extract On The Liver White Rats (Rattus norvegicus) Induced By Soft Drinks." *JURNAL PEMBELAJARAN DAN BIOLOGI NUKLEUS* 10, no. 3 (2024): 1051-62.



Changes in the expression of the tumor suppressor gene (TP53) in liver tissue and oxidative markers following six weeks of resistance training and pineapple extract consumption in mice with melanoma cancer

Saeid Shahrestani ¹, Hossein Abednatanzi², Bahram Abedi³, Shahram Soheily⁴

1-Ph.D. Student of Exercise physiology, department of physical education and sport science, Science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Department of physical education and sport science, Science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3- Department of Physical Education and Sports Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4-Department of Physical Education and Sport Sciences, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received:2025.06.15

Accepted: 2025.09.06

Abstract

Background & Aim: Melanoma cancer is the most severe subtype of skin cancer, which has high invasiveness and rapid metastasis to other organs. Recently, the role of sports training in the prevention and treatment of cancer has received much attention. Pineapple also belongs to the bromolyase family and the bromoloid subfamily, whose anti-cancer properties have been suggested. P53 gene is a tumor suppressor gene. The aim of the present study was to study the effect of six weeks of resistance training and consumption of pineapple extract on tumor volume and tumor tissue P53 gene expression in mice with melanoma cancer.

Materials & Methods: The basic study began with 32 C57 mice as a sample, which was eventually divided into four groups, including the remaining 20 mice in four groups including control, resistance training, pineapple extract and resistance training-pineapple. After tumor induction in mice, the program of resistance training and pineapple extract at the rate of 300 mg/kg was implemented for six weeks. The weight and tumor volume of mice were measured. Measurement of P53 gene expression in tumor 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. A significance level of $p \leq 0.05$ was considered.

Results: Results was shown that compared to the control group, resistance training and pineapple-based training significantly reduced tumor volume and decreased P53 gene expression in tumor tissue and increased GPX antioxidant index and decreased MDA oxidative stress index in experimental groups, while in the interaction group, the mean changes and effectiveness were greater.

Conclusion: Resistance training and pineapple extract led to weight loss and significant reduction in tumor volume and increased expression of the tumor suppressor p53 gene and increased GPX antioxidant index and decreased MDA oxidative stress index in experimental groups compared to the control group in tumor tissue.

Key words: resistance training, pineapple, melanoma cancer, tumor, P53