

تأثیر تمرینات استقامتی و عصاره‌ی گزنه بر بیان ژن COX-1 و COX-2 در موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما

جاوید اسماعیل‌پور^۱، علیرضا براری^۲، احمد عبدی^۳، حسین عابد نظنزی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی تأثیر تمرینات استقامتی و عصاره‌ی گزنه بر بیان ژن COX-1 و COX-2 در موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما بود.**روش‌ها:** در این مطالعه، ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: ۱. شاهد، ۲. تمرین بدنی، ۳. عصاره‌ی گزنه، ۴. تمرین بدنی + عصاره‌ی گزنه تقسیم شدند. یک هفته پس از القاء سرطان ملانوما، گروه تجربی میزان ۳۰mg/kg/day عصاره‌ی اتانولی گیاه گزنه را به روش خوراکی و به مدت ۸ هفته مصرف کردند. برنامه‌ی تمرین شامل ۳۰ دقیقه دویدن روی تردمیل بدون شیب و با سرعت ۱۶ متر در دقیقه برای هفته‌ی اول بود و هر هفته یک متر بر دقیقه اضافه شد تا در هفته‌ی هشتم به ۲۲ متر بر دقیقه رسید. برای اندازه‌گیری میزان بیان ژن COX-1 و COX-2 از روش RT-PCR استفاده شد.**یافته‌ها:** مصرف عصاره‌ی گزنه و تمرینات استقامتی موجب تغییرات معنی‌دار سطوح COX-2 در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شاهد شد. مقادیر COX-2 در گروه‌های عصاره و ترکیبی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت. همچنین نتایج نشان داد که سطوح COX-1 تغییرات معنی‌داری در بین گروه‌های تجربی و شاهد نداشت.**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد، ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌ی گزنه مانند فلاونوئیدها، ترین‌ها، اسیدهای چرب و فنولیک‌ها ممکن است مسؤول اثر ضد آپوپتوز و ضدسرطانی باشند. همچنین تمرینات استقامتی سبب کاهش معنی‌دار در مقادیر COX2 نسبت به گروه شاهد شد.**واژگان کلیدی:** تمرین استقامتی؛ سیکلواکسیژناز؛ پروستاگلاندین؛ فلاونوئیدها؛ ترین‌ها؛ اسیدهای چرب**ارجاع:** اسماعیل‌پور جاوید، براری علیرضا، عبدی احمد، عابد نظنزی حسین. تأثیر تمرینات استقامتی و عصاره‌ی گزنه بر بیان ژن COX-1 و COX-2 در موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۷۳): ۳۷۵-۳۸۲

سلولی و با فعالیت‌های متابولیکی و غدد درون‌ریز منحصر به فرد انواع مختلف سلول‌های ساکن و نفوذی منعکس می‌شود. در پوست، ملانوسیت‌ها عمدتاً در محل اتصال اپیدرم به پوست و در فولیکول‌های مو یافت می‌شوند، جایی که ملانین تولید می‌کنند (۲، ۳).

آنزیم سیکلواکسیژناز (COX (Cyclooxygenase)، آنزیم کلیدی در تبدیل اسید آراشیدونیک به پروستاگلاندین است. دو ایزوفرم به نام‌های COX-1 و COX-2 دارد. آنزیم COX-2، نقش مهمی در تنظیم تکثیر سلولی، تمایزدهایی و سرطان‌زایی ایفا می‌کند و با التهاب، درد، رگ‌زایی و سرطان ارتباط دارد. همان‌طور که اشاره شد، COX-2 یکی از فاکتورهای مؤثر در افزایش رگ‌زایی است و بیان بیش از حد

مقدمه

سرطان ملانوما، از تحریک ملانوسیت‌های پوستی ناشی می‌شود که منجر به افزایش سالانه ۳ تا ۷ درصد این سلول‌ها می‌گردد (۱). پوست، به عنوان در معرض‌ترین بافت بدن، دارای طیف وسیعی از عملکردهای فیزیولوژیکی است. مهم‌تر از همه، اپیدرمیک سد منحصر به فرد را تشکیل می‌دهد که محرک‌های مضر فیزیکی، شیمیایی و میکروبیولوژیکی را حذف کرده و مایعات بدن را حفظ می‌کند. علاوه بر این، اپیدرم قادر به تحریک سیستم ایمنی غیر اختصاصی، درک محرک‌های حسی و کمک به تنظیم حرارت است (۲). این تطبیق‌پذیری عملکردی توسط یک سازمان بافت پیچیده در سطح

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، آمل، ایران

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

۳- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: علیرضا براری؛ دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

به چند مطالعه‌ی آزمایشگاهی بر روی رده‌های سلولی سرطان سینه، پروستات و اخیراً، علاوه بر برخی مدل‌های حیوانی است (۱۴، ۱۵). سازوکارها و تأثیرات مفید تمرینات بدنی بر فرایند سرطان بسیار پیچیده است. در همین راستا، Barari و همکاران نشان داده‌اند که شش هفته تمرین استقامتی و مصرف عصاره‌ی آلژه‌ورا، سطوح COX 2 در موش‌های مبتلا به سرطان سینه را کاهش می‌دهد (۱۶). در یک مطالعه‌ی دیگر نیز افزایش معنی‌دار بیان پروستاگلاندین E سنتاز و تنظیم منفی آنزیم COX 2 در هیپوتالاموس موش‌ها بعد از تمرینات استقامتی و قدرتی مشاهده شده است (۱۷). در سال‌های اخیر فعالیت استقامتی به عنوان یک مداخله‌ی بی‌خطر در پیشگیری و بهبود کیفیت زندگی افراد مبتلا به سرطان معرفی شده است (۱۸، ۱۹). با توجه به اینکه سرطان پوست از موارد شایع در کشور می‌باشد، بررسی تأثیرگذاری مداخله‌های بی‌خطر و کم هزینه، از جمله فعالیت ورزشی منظم و استفاده از مکمل‌های گیاهی می‌تواند تأثیرات فیزیولوژیک این مداخله‌ها را به عنوان یک روش مقرون به صرفه مشخص تر کند. بر اساس نتایج تحقیقات مختلف در زمینه‌ی اثر مثبت تمرینات بدنی بر پیشگیری و حتی درمان انواع سرطان‌ها، این مطالعه، اثر مداخله‌ی شدت متوسطی از تمرینات استقامتی را مورد بررسی قرار داده است. هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثر مصرف عصاره‌ی گزنه و یک دوره تمرینات استقامتی بر سیکلواکسیژناز-۱ و سیکلواکسیژناز-۲ در بافت کبد موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما می‌باشد.

روش‌ها

در این مطالعه، ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ هشت هفته‌ای با میانگین وزن اولیه ۳۰۰-۳۵۰ گرم از انستیتو پاستور خریداری و به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انتقال داده شدند. این مطالعه با کد اخلاق شماره IR.IAU.M.REC.1399.008 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت مصوب گردید. پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف به ابعاد ۱۵ × ۲۶/۵ × ۴۲، دمای ۲ ± ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۵ ± ۵۵ درصد و چرخه‌ی روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب نگهداری شدند. غذای حیوانات و آب به صورت آزاد و در اختیار تا پایان پروتکل در دسترس بود. سلول‌های B16F10 از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. این سلول‌ها به دلیل یکسان بودن نوع سلول با گونه‌ی موش مورد مطالعه انتخاب شدند. سلول‌ها در محیط کشت M199 کشت داده شدند و زمانی که تعداد سلولی به ۸۰ درصد رسید، برای تزریق به موش آماده گردید. تعداد سلول‌های زنده قبل از تزریق با رنگ‌آمیزی تریپان‌بلو شمارش شد. به موش‌های مورد نظر در روز مطالعه، ۱۰۶ سلول ملانوما به صورت زیر جلدی در پهلوئی چپ تزریق شد (۲۰).

آن در سرطان سبب ازدیاد تولید فاکتورهای رشد رگزا می‌شود (۶، ۵). ملانوم‌های بدخیم COX-1 را به میزانی مشابه کراتینوسیت‌های طبیعی مجاور بیان می‌کنند (۴). در حالی که گزارش‌های مربوط به بیان COX-2 متناقض هستند. بیان متوسط تا قوی COX-2 در بسیاری از مطالعات برای ملانوم‌های اولیه و متاستاتیک ثبت شده است؛ ولی در تحقیقات دیگر تغییرات معنی‌داری در بیان COX-2 ایجاد نگردید (۷).

التهاب، یکی از عوامل اصلی ترویج سرطان عنوان شده است. با توجه به نقش COX1 و COX-2، آنزیم‌های کلیدی محدودکننده در تنظیم سنتز PGE2، افزایش می‌یابد. به طور خاص نشان داده شده است که ایزوفریم COX-2 در انواع مختلف سرطان، عمدتاً توسط سلول‌های استرومایی بیان می‌شود (۸). در ملانوما بیان COX-2 در نمونه‌های انسانی و مدل‌های موش تشخیص داده شده است. پیشنهاد شده است که بیان COX-2 در توسعه و پیشرفت ملانوم نقش داشته باشد. اخیراً این مفهوم با یافته‌های تقویت شده‌ی مهار فعال شدن سلول‌های میلوئیدی وابسته به PGE2 یک مکانیسم اضافی قوی برای فرار از ایمنی تومور است و توسط PGE2 مشتق شده از COX-2 هدایت می‌شود (۹). با این حال، در مرحله‌ی حاضر هنوز اطلاعات متناقضی در مورد نقش COX-2 هم در توسعه و پیشرفت ملانوم وجود دارد.

استفاده از گیاهان به عنوان دارو برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها از روزگاران کهن مورد توجه متخصصان طب سنتی قرار داشته و تا ابتدای قرن شانزدهم معتبرترین روش برای درمان بیماری‌ها به شمار می‌آید. برای پیشگیری و افزایش کیفیت زندگی مبتلایان به سرطان می‌توان از فعالیت بدنی و گیاهان دارویی به عنوان مداخلاتی بی‌خطر استفاده کرد (۱۰).

گیاه گزنه، دارای برگ‌های گوشتی، افتاده، دندانه‌دار و تقریباً قلبی شکل است و برگ‌ها و ساقه‌ی آن با کرک‌های گزنده کوچک و راست پوشیده شده است. این موهای نیش‌دار حاوی غلظت بالایی از اسید فرمیک و هیستامین هستند (۱۱، ۱۲). گیاه گزنه، غنی از اسیدهای آمینه‌ی ضروری، چندین ماده‌ی معدنی مانند کلسیم، آهن، منیزیم و فسفر و ویتامین‌هایی مانند C، B و K است. علاوه بر این، حاوی فلاونوئیدها است که علاوه بر فعالیت ضد التهابی پلی ساکاریدهای آن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند (۱۳). این ماده به عنوان یکی از مهم‌ترین ترکیبات طبیعی ضدسرطان با مکانیسمی متفاوت از سایر داروهای مشابه در این زمینه، در سراسر دنیا برای درمان انواع سرطان‌ها از جمله سرطان پوست، ریه، مجاری ادرار، مری و غدد لنفاوی به طور مؤثر مورد استفاده قرار می‌گیرد. با وجود تمام این اثرات مطالعه شده، عصاره‌ی گزنه، داده‌هایی که شواهد بالینی را برای اثر ضدسرطانی آن نشان می‌دهند، کمیاب و محدود

جدول ۱. مشخصات توالی پرایمرهای مربوط به هر یک از ژن‌ها

Gene	Forward	Reverse
COX-1	5'-TGC CCA GCT CCT GGC CCG CCG CTT-3'	5'-GTG CAT CAA CAC AGG CGC CTC TTC-3'
COX-2	5'-TTC AAA TGA GAT TGT GGG AAA ATT GCT-3'	5'-AGA TCA TCT CTG CCT GAG TAT CTT-3'

از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد و جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk و بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون Levene استفاده شد. همچنین برای بررسی تغییرات معنی‌داری هر یک از متغیرهای مطالعه، بین گروه‌های مختلف از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی Tukey در برنامه‌ی ANOVA جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات، $P < 0/05$ به دست آمد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) آنالیز شد.

یافته‌ها

داده‌های حاصل از متغیرهای مطالعه برای ۴ گروه در قالب جدول ۲ به صورت توصیفی آورده شده است. میانگین و انحراف معیار مربوط به سطح بیان ژن COX-1 و COX-2 در گروه‌های مختلف مورد مطالعه نشان می‌دهد که کم‌ترین غلظت COX-1 در گروه تمرین و بیشترین سطوح آن در گروه شاهد مشاهده شد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که بیشترین غلظت COX-2 در گروه شاهد و کم‌ترین سطوح آن در گروه عصاره مشاهده شد.

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار مربوط به متغیرهای مطالعه

گروه	متغیر	
	COX-2	COX-1
شاهد	۱۰/۸۳ ± ۰/۵۴	۱۳/۳۳ ± ۳/۴۷
تمرین	۹/۸۵ ± ۱/۰۶	۱۱/۶۲ ± ۰/۳۳
عصاره	۸/۶۹ ± ۰/۴۳	۱۱/۵۶ ± ۰/۸۱
ترکیبی	۹/۲۶ ± ۰/۰۹	۱۱/۶۳ ± ۰/۹۳

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد، بیان ژن COX-1 در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد روند کاهشی داشت؛ ولی به سطح معنی‌داری نرسید ($P = 0/154$). همچنین نتایج نشان داد که بیان ژن COX-2 در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($P = 0/003$). آزمون تعقیبی نشان داد که بیان ژن COX-2 بین گروه ترکیبی با سایر گروه‌ها نیز تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۳ و ۴ و شکل ۱ و ۲).

حیوانات پس از ورود به محیط پژوهش و آشنایی دو هفته‌ای با محیط جدید و نحوه‌ی فعالیت روی نوارگردان، به صورت تصادفی به ۴ گروه ۱- شاهد، ۲- تمرین، ۳- گزنه و ۴- تمرین + گزنه تقسیم شدند. تمرین ورزشی، چهار روز بعد از شروع مکمل‌دهی به مدت شش هفته، هفته‌ای ۵ جلسه بر روی تردمیل انجام شد. موش‌ها در گروه تمرین به منظور آشناسازی با تردمیل یک هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۵ روز ورزش می‌کنند. از هفته‌ی دوم، مرحله‌ی اضافه بار به مدت سه هفته تا پایان هفته‌ی چهارم اعمال می‌شود. مرحله‌ی اضافه بار بدین گونه می‌باشد که در هر روز تمرینی ۳ دقیقه به زمان فعالیت و یک متر بر دقیقه بر سرعت تردمیل افزوده می‌شود، تا اینکه در پایان هفته‌ی چهارم، سرعت تردمیل به ۲۸ متر بر دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه فعالیت برسد. از هفته‌ی چهارم تا ششم به مدت سه هفته، مرحله‌ی تثبیت با سرعت ۲۸ متر بر دقیقه ادامه داشت.

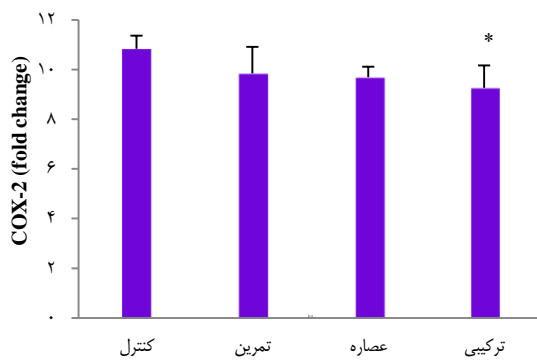
۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی فعالیت استقامتی و پس از مصرف آخرین عصاره‌ی گیاه گزنه، نمونه‌گیری انجام شد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلوزین (۵/۳ g/kg) بیهوش و به منظور خون‌گیری از محفظه خارج و به روی میز جراحی انتقال داده شدند. البته برای بررسی بیان ژن در این مطالعه، بافت کبد نیز مورد آزمون قرار گرفت. جهت خون‌گیری آزمودنی‌ها به پشت، روی میز آزمایشگاه ثابت و با استفاده از سرنگ ۵ سی‌سی بعد از برش شکم به صورت مستقیم از بطن راست حیوانات خون‌گیری انجام شد. برای بررسی بیان ژن‌ها از تکنیک Real time PCR توسط دستگاه Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Australia) با تعداد ۴۰ سیکل استفاده شد. پرایمرهای ۳ ژن به همراه ۱ ژن کنترل یا رفرانس GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) طراحی و برای سنتز به شرکت سیناکلون سفارش داده شد (جدول ۱). برای PCR از 2x master mix buffer، ترکیب پرایمر forward و Reverse، cDNA و آب تزریقی استفاده گردید. ترکیب حاصله به میزان ۱۰ مایکرولیتر در ویال مخصوص دستگاه کوربت تهیه شد و سپس در روتر دستگاه قرار گرفت. میزان سطح mRNAs هر یک از ژن‌ها به طور نسبی در مقایسه با میزان سطح mRNAs ژن GAPDH محاسبه گردید.

توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به بیان ژن COX-1 در گروه‌های مختلف

متغیر	مجموع مجدورات	درجات آزادی	میانگین مجدورات	نسبت F	سطح معنی‌داری
COX-1	بین گروه‌ها	۳	۳/۷۱۲	۱/۰۹۷	۰/۳۹۷
	درون گروه	۱۶	۳/۳۸۵		
	مجموع	۱۹			

دخالت دارد. در حقیقت، COX-2 با ایجاد التهاب، رگ‌زایی و سرطان ارتباط دارد.



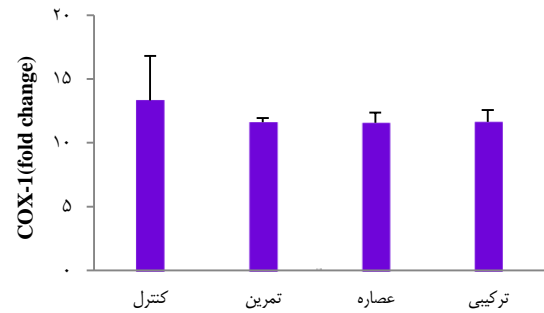
شکل ۲. تغییرات بیان ژن COX-2 در گروه‌های مختلف

* تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد، تمرین و عصاره

به نظر می‌رسد که نقش پیش‌التهابی عمدتاً می‌تواند توسط سیکلوآکسیژناز-۲ ایجاد شود، در حالی که فعالیت‌های اساسی‌تر توسط سیکلوآکسیژناز-۱ تنظیم می‌شود. در بیشتر تحقیقات صورت گرفته در خصوص انواع فعالیت بدنی و سرطان، نتایج کلی حاکی از آن بود که افرادی که فعالیت بیشتری دارند کمتر در خطر ابتلا به سرطان قرار دارند.

Nam و همکاران، اثرات مختلف فعالیت بر روی ترمیم بر سطح سیکلوآکسیژناز-۲ را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که سطح سیکلوآکسیژناز-۲ افزایش یافت (۲۷).

تحقیقات انجام شده به وسیله‌ی Barrari و همکاران نشان داد که تمرینات استقامتی و مصرف مکمل سیلی مارین سبب افزایش سطوح سیکلوآکسیژناز-۲ و فاکتورهای انعقادی در زنان غیرفعال در گروه‌های مختلف تمرین گردید (۲۸).



شکل ۱. تغییرات بیان ژن COX-1 در گروه‌های مختلف مطالعه

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که مصرف عصاره‌ی گزنه و تمرینات استقامتی، موجب تغییرات معنی‌دار سطوح COX-2 در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شاهد شد؛ مقادیر COX-2 در گروه‌های عصاره و ترکیبی در مقایسه با گروه شاهد، کاهش معنی‌داری یافت. همچنین نتایج نشان داد که سطوح COX-1 تغییرات معنی‌داری در بین گروه‌های تجربی و شاهد نداشت. نقش سیکلوآکسیژنازها و COX-2 در ایجاد التهاب در بسیاری از سرطان‌ها از جمله مری (۲۱)، دستگاه گوارش (۲۲)، پوست (۲۳) و پانکراس (۲۴) بررسی شده است. نکته‌ی مهم این که، تغییرات COX-2 با افزایش پروستاگلاندین و حجم تومور سرطانی مرتبط بود (۲۵). برخی از تحقیقات نیز نشان دادند که افزایش پروستاگلاندین‌ها در پاسخ به سیتوکین‌ها و سایر واسطه‌های التهابی منجر به افزایش فعالیت COX می‌گردد (۲۶).

البته سیکلوآکسیژناز، آنزیمی کلیدی در تبدیل اسید آراشیدونیک به پروستاگلاندین‌ها است. آنزیم COX-1 در اکثر بافت‌ها به طور پیوسته بیان می‌شود و در عملکردهای فیزیولوژیک دخیل است، در حالی که آنزیم COX-2 به عنوان جزئی از واکنش‌های التهابی در پاسخ به تحریکات خارج سلولی سریعاً القا شده و در اعمال پاتولوژیکی

جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به بیان ژن COX-2 در گروه‌های مختلف

متغیر	مجموع مجدورات	درجات آزادی	میانگین مجدورات	نسبت F	سطح معنی‌داری
COX-2	بین گروه‌ها	۳	۴/۱۹۳	۶/۸۶۱	۰/۰۰۳
	درون گروه	۱۶	۰/۶۱۱		
	مجموع	۱۹			

کاهش بیان Bcl-2 نشان داده شد (۱۵).

علاوه بر این، عصاره‌ی گزنه باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطان سینه، عمدتاً سلول‌های MCF-7، از طریق افزایش سطح بیان Bax، یک پروتئین پروآپوپتوز شناخته شده درگیر در مسیر ذاتی شد (۳۴، ۳۵). در موش‌ها، درمان با عصاره‌ی متانولی گزنه، به احتمال زیاد به دلیل افزایش مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) (Catalase) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) (Superoxide dismutase) و محتوای گلووتاتیون (GSH) (Glutathione) افزایش داشت. این فعالیت‌ها ممکن است به محتوای فلاونوئیدگزنه نسبت داده شود (۳۶). یکی از علائم بارز سرطان، مقاومت در برابر آپوپتوز است، که نشان می‌دهد، القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی یک مکانیسم مهم ضدسرطان است (۳۷).

نتایج مشخصات شیمیایی عصاره‌ی گزنه، تهیه شده از برگ‌های تازه‌ی گیاه گزنه در مطالعه‌ی حاضر، ممکن است به درک عوامل شیمیایی و اجزای مؤثر آن در مهار تکثیر سلول‌های سرطانی و القای آپوپتوز کمک کند. عصاره‌ی حاوی مقدار غالب پاتولین، یک فلاونول O-methylated شناخته شده است. نشان داده شد که این فلاونول دارای اثرات ضد تکثیر و پیش آپوپتوز در رده‌ی سلولی سرطان سینه انسان می‌باشد (۳۸، ۳۹).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد، ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌ی گزنه مانند فلاونوئیدها، ترپن‌ها، سسکوی‌ترپن‌ها (Sesquiterpenes)، اسیدهای چرب و فنولیک‌ها ممکن است مسؤول اثر آپوپتوز و ضد تومور باشند. اثرات عصاره‌ی گزنه می‌تواند امید و چشم‌اندازهای جدیدی را در استفاده از داروهای گیاهی و عصاره‌های طبیعی آن‌ها برای درمان انواع مختلف سرطان ارائه دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، منتج از پایان‌نامه‌ی که با کد پیگیری ۱۶۲۳۵۳۹۸۵ در سامانه‌ی پژوهشیار در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی به تصویب رسیده است.

نتایج مطالعه‌ی حاضر با تحقیقات یاد شده در تناقض می‌باشد. علت این تفاوت می‌تواند به نوع، شدت، مدت تمرین و همچنین سالم و یا سرطانی بودن آزمودنی‌ها و نمونه‌های انسانی و حیوانی مربوط باشد. در مطالعه‌ی حاضر، آزمودنی‌های حیوانی سرطانی مورد بررسی قرار گرفت در حالی که در تحقیقات یاد شده، آزمودنی‌ها انسانی و سالم بودند.

اگرچه اثر مصرف گیاهان دارویی در درمان سرطان‌ها و بهبود بیماری‌ها مبهم است اما استفاده از آن در بیماران مبتلا به سرطان در سراسر جهان متداول می‌باشد. البته این گیاهان در کاهش عوارض شیمی‌درمانی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۹، ۳۰). با این حال نتایج مثبتی در زمینه‌ی اثرات ضد توموری گیاهان دارویی وجود دارد. مصرف عصاره‌ی گیاه گزنه به عنوان یک داروی گیاهی محبوب با کاربردهای مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۱). تحقیقات مختلف نشان داد که عصاره‌ی گزنه، تکثیر سلول‌های سرطان سینه را در موش‌های بلب سی مهار کرد و حتی منجر به کاهش قابل توجه توده‌ی توموری در مقایسه با گروه شاهد شد (۳۲). علاوه بر این، عصاره‌ی آبی برگ خشک گزنه، اثرات آنتی‌اکسیدانی و آپوپتوزی را بر روی رده‌ی سلولی سرطان سینه پس از ۷۲ ساعت درمان، اعمال کرد (۱۳). به طور مشابه، همان عصاره، اثرات سیتوتوکسیک و آپوپتوز را بر روی رده‌ی سلولی LNCap سرطان پروستات پس از ۲۴ ساعت درمان با IC50 42 میکروگرم بر میلی‌لیتر اعمال کرد (۱۴). در مطالعه‌ی حاضر، سطوح COX-2 در گروه عصاره و ترکیبی کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد داشت که همسو با تحقیقات قبلی بود.

Mohammadi و همکاران نشان دادند که عصاره‌ی دی‌کلرومتان گیاه گزنه باعث توقف چرخه‌ی سلولی رده‌ی سلولی سرطان کولورکتال می‌شود (۱۵). علاوه بر این، تزریق عصاره‌ی گزنه به صورت داخل صفاقی به مدل موش مبتلا به سرطان سینه، توانست از طریق افزایش بیان کاسپاز-۳ پروآپوپتوز و کاهش پروتئین ضد آپوپتوز Bcl-2، فعال شدن مسیر آپوپتوتیک ذاتی را ایجاد کند (۳۳). فعال‌سازی مسیر ذاتی ناشی از عصاره‌ی گزنه نیز در مطالعه‌ی Mohammadi و همکاران با افزایش بیان کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ و

References

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69(1): 7-3.
2. Guy GP, Thomas CC, Thompson T, Watson M, Massetti GM, Richardson LC, et al. Vital signs: melanoma incidence and mortality trends and projections-United States, 1982-2030. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015; 64(21): 591-6.
3. Que J, Garman KS, Souza RF, Spechler SJ. Pathogenesis and cells of origin of barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2019; 157(2): 349-64.
4. Moon H, Kim D, Donahue LR, White AC. Phenotypic plasticity of cutaneous squamous cell carcinoma mediated by cyclooxygenase-2. *J Invest Dermatol* 2020; 140(8):1665-9.

5. Kaminska K, Szczylik C, Lian F, Czarnecka AM. The role of prostaglandin E2 in renal cell cancer development: Future implications for prognosis and therapy. *Future Oncol* 2014; 10(14): 2177-87.
6. Elmets CA, Ledet JJ, Athar M. Cyclooxygenases: Mediators of UV-induced skin cancer and potential targets for prevention. *J Invest Dermatol* 2014; 134(10): 2497-502.
7. Muraoka N, Nara K, Tamura F, Kojima H, Yamakawa H, Sadahiro T, et al. Role of cyclooxygenase-2-mediated prostaglandin E2-prostaglandin E receptor 4 signaling in cardiac reprogramming. *Nat Commun* 2019; 10(1): 674.
8. de Thé H. Differentiation therapy revisited. *Nat Rev Cancer* 2018; 18(2): 117-27.
9. Jiao J, Mikulec C, Ishikawa TO, Magyar C, Dumlaio DS, Dennis EA, et al. Cell-type-specific roles for COX-2 in UVB-induced skin cancer. *Carcinogenesis* 2014; 35(6): 1310-9.
10. Yari Khosroshahi A, Habibi Khaniani B, Naghdibadi HA. Review on taxol as the most important anticancer natural drug [In Persian]. *J Med Plants* 2006; 5(18): 1-10.
11. Bourgeois C, Leclerc ÉA, Corbin C, Doussot J, Serrano V, Vanier JR, et al. Nettle (*Urtica dioica* L.) as a source of antioxidant and anti-aging phytochemicals for cosmetic applications. *Comptes Rendus Chimie* 2016; 19(9): 1090-100.
12. Morgia G, Privitera S. Phytotherapy in benign prostatic hyperplasia. In: Morgia G, Russo GI, editors. Lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia. Amsterdam, NA: Elsevier Science; 2018. p. 135-75.
13. Fattahi S, Motevalizadeh Ardekani AM, Zabihi E, Abedian Z, Mostafazadeh A, Pourbagher R, et al. Antioxidant and apoptotic effects of an aqueous extract of *Urtica dioica* on the MCF-7 human breast cancer cell line. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(9): 5317-23.
14. Levy A, Sivanesan D, Murugan R, Jornadal J, Quinonez Y, Jaffe M, et al. *Urtica dioica* Induces cytotoxicity in human prostate carcinoma LNCaP Cells: Involvement of oxidative stress, mitochondrial depolarization and apoptosis. *Trop J Pharm Res* 2014; 13(5): 711-7.
15. Mohammadi A, Mansoori B, Aghapour M, Shirjang S, Nami S, Baradaran B. The *Urtica dioica* extract enhances sensitivity of paclitaxel drug to MDA-MB-468 breast cancer cells. *Biomed Pharmacother* 2016; 83: 835-42.
16. Barari AR, Mojhdé MA, Farzanegi PA, Ghasemi MO. Effect of six weeks of endurance training and Aloe Vera on COX-2 and MMP-9 levels in mice with breast cancer [In Persian]. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2016; 24(1): 65-73.
17. Krüger K, Bredehöft J, Mooren FC, Rummel C. Different effects of strength and endurance exercise training on COX-2 and mPGES expression in mouse brain are independent of peripheral inflammation. *J Appl Physiol* (1985) 2016; 121(1): 248-54.
18. Betof AS, Dewhirst MW, Jones LW. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: a translational perspective. *Brain Behav Immun* 2013; 30(Suppl 0): S75-87.
19. Beaudry RI, Liang Y, Boyton ST, Tucker WJ, Brothers RM, Daniel KM, et al. Meta-analysis of exercise training on vascular endothelial function in cancer survivors. *Integr Cancer Ther* 2018; 17(2): 192-9.
20. Amjadi F, Haghjooy Javanmard S, Zarkesh-Esfahani H, Khazaei M, Narimani M. Leptin promotes melanoma tumor growth in mice related to increasing circulating endothelial progenitor cells numbers and plasma NO production. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30(1): 21.
21. Zhang M, Zhou S, Zhang L, Ye W, Wen Q, Wang J. Role of cancer-related inflammation in esophageal cancer. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2013; 23(1): 27-35.
22. Cheng J, Fan XM. Role of cyclooxygenase-2 in gastric cancer development and progression. *World J Gastroenterol* 2013; 19(42): 7361-8.
23. Elmets CA, Ledet JJ, Athar M. Cyclooxygenases: Mediators of UV-induced skin cancer and potential targets for prevention. *J Invest Dermatol* 2014; 134(10): 2497-502.
24. Knab LM, Grippo PJ, Bentrem DJ. Involvement of eicosanoids in the pathogenesis of pancreatic cancer: The roles of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase. *World J Gastroenterol* 2014; 20(31): 10729-39.
25. Cebola I, Peinado MA. Epigenetic deregulation of the COX pathway in cancer. *Prog Lipid Res* 2012; 51(4): 301-13.
26. Renna NF, Diez ER, Lembo C, Miatello RM. Role of Cox-2 in vascular inflammation: an experimental model of metabolic syndrome. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 513251.
27. Nam SM, Yi SS, Yoo KY, Park OK, Yan B, Song W, 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(3): 189-95.
28. Barrari A, Abbassi Dalooi A, Tamaskan N. The effect of combining the aerobic exercise and silymarin on the cyclooxygenase-2 and coagulation factors in young inactive women. *Indian J Fundam Appl Life Sci* 2013, 3(3): 342-9.
29. Samuels N, Morag O, Maimon Y. Use of herbal medicine for cancer treatment-related toxicities [In Hebrew]. *Harefuah* 2015; 154(1): 43-6, 67.
30. Yin SY, Wei WC, Jian FY, Yang NS. Therapeutic applications of herbal medicines for cancer patients. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 302426.
31. Telo S, Halifeoglu I, Ozercan IH. Effects of stinging nettle (*Urtica Dioica* L.) on antioxidant enzyme activities in rat model of mammary gland cancer. *Iran J Pharm Res* 2017; 16(Suppl): 164-70.
32. Mohammadi A, Mansoori B, Chokhachi Baradaran P, Khaze V, Aghapour M, Farhadi M, et al. *Urtica dioica* extract inhibits proliferation and induces apoptosis and related gene expression of breast cancer cells in vitro and in vivo. *Clin Breast Cancer* 2017; 17(6): 463-70.
33. Mansoori B, Mohammadi A, Hashemzadeh S, Shirjang S, Baradaran A, Asadi M, et al. *Urtica dioica*

- extract suppresses miR-21 and metastasis-related genes in breast cancer. *Biomed Pharmacother* 2017; 93: 95-102.
34. Zhu Q, Jin L, Casero RA, Davidson NE, Huang Y. Role of ornithine decarboxylase in regulation of estrogen receptor alpha expression and growth in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 136(1): 57-66.
35. Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci* 2005; 78(5): 431-41.
36. Özkol H, Musa D, Tuluçe Y, Koyuncu I. Ameliorative influence of *Urtica dioica* L against cisplatin-induced toxicity in mice bearing Ehrlich ascites carcinoma. *Drug Chem Toxicol* 2012; 35(3): 251-7.
37. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646-74.
38. Osman WM, Youssef NS. Combined use of COX-1 and VEGF immunohistochemistry refines the histopathologic prognosis of renal cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(7): 8165-77.
39. Anantharaju PG, Gowda PC, Vimalambike MG, Madhunapantula SV. An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nutr J* 2016; 15(1): 99.

The Effect of Nettle Extract and Aerobic Training on the Gene Expression of COX-1 and COX-2 in Mice with Melanoma

Javid Esmaeelpour¹, Alireza Barari², Ahmad Abdi², Hosein Abed-Natanzi³

Original Article

Abstract

Background: The aim of this study was to evaluate the effect of nettle extract consumption and aerobic exercise on COX-1 and COX-2 gene expression in mice with melanoma.

Methods: In this study, 20 adult male rats were randomly divided into 4 groups: 1. control, 2. physical exercise, 3. nettle extract, 4. physical exercise + nettle extract. A week after inducing melanoma, the experimental group consumed 30 mg / kg / day of nettle ethanol extract orally for 8 weeks. The training program consisted of 30 minutes of running on a treadmill without a slope at a speed of 16 meters per minute for the first week, and one meter per minute was added every week until it reached 22 meters per minute in the eighth week. RT PCR was used to measure the expression of COX-1 and COX-2 genes.

Findings: The results of the present study showed that consumption of nettle extract and aerobic exercise caused significant changes in COX-2 levels in experimental groups compared with the control group. COX-2 levels in the extract and combination groups were significantly reduced compared to the control group. Also, the results showed that COX-1 levels were significantly different between the experimental and control groups.

Conclusion: The results of the present study showed that the chemical compounds in nettle extract such as flavonoids, terpenes, fatty acids and phenolics may be responsible for apoptotic and anti-cancer effects. Also, endurance training caused a significant decrease in COX2 levels compared with the control group.

Keywords: Endurance training; Cyclooxygenase; Prostaglandins; Flavonoids; Terpenes; Fatty acids

Citation: Esmaeelpour J, Barari A, Abdi A, Abed-Natanzi H. **The Effect of Nettle Extract and Aerobic Training on the Gene Expression of COX-1 and COX-2 in Mice with Melanoma.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(673): 375-82.

1- PhD Student in Sport Physiology, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

2- Associate Professor, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

3- Assistant Professor, Department of Sport Physiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Alireza Barari, Associate Professor, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran; Email: alireza54.barari@gmail.com