مقاله اصلی

نشر، سال ۹، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، صفحات ۱۶ تا ۲۸

تاثیر تمرین هوازی و عصاره آناناس بر بیان ژن‌های Bax و Bcl-2 و نسبت Bax/Bcl-2 در بافت کبد موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما

حمیده طاولی[۱]، حسین عابد نطنزی[۱*]، محمدعلی آذربایجانی[۲]، علیرضا ایرانبخش[۳]

۱) گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی،دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
۲) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی تهران مرکزی، تهران، ایران.
۳) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

چکیده:

در چند دهه گذشته، توجه بر درک اساس مولکولی سرطان‌زایی بیشتر شده است. یکی از این مکانیسم‌ها آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است که مکانیسم کلیدی تنظیم‌کننده رشد فیزیولوژیکی و هموستاز بافتی است. این پژوهش جهت بررسی تأثیر تمرین هوازی و عصاره آناناس بر بیان ژن‌های Bax و Bcl-2 و نسبت Bax/Bcl-2 در بافت کبد موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما طراحی گردید. این مطالعه بر روی ۳۲ سر موش‌های نژاد C57 و در چهار گروه کنترل، تمرین هوازی، عصاره آناناس و تمرین هوازی-آناناس انجام شد. پس از القای تومور، برنامه تمرین هوازی به مدت شش هفته و گاواژ عصاره آناناس به میزان 300 mg/kg روی حیوانات انجام شد. پس از تهیه خون و نمونه‌های بافتی، بیان ژن‌های آپوپتوزی بافت کبد به روش RT-PCR انجام گرفت. سپس داده‌ها با استفاده آنالیز واریانس یک طرفه، دوعاملی و تعقیبی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معناداری $p\leq$ در نظر گرفته شد. یافته‌ها نشان داد بیان ژن Bax نسبت به گروه کنترل درگروه‌های تجربی کاهش داشته بدین صورت که درگروه آناناس و تمرین-آناناس کاهش بیشتر است. بیان ژن Bcl نسبت به گروه کنترل درگروه های تجربی افزایش داشته که درگروه آناناس و تمرین-آناناس بیشتر بود. نسبت بیان ژن Bax/Bcl-2 درگروه‌های تجربی کاهش داشته که درگروه آناناس و تمرین آناناس این کاهش بیشتر بود. نتایج نشان داد که ترکیب تمرین هوازی و عصاره آناناس نقش موثری در پیشگیری از رشد تومور و کاهش عوامل آپوپتوزی و افزایش عوامل ضدآپوپتوزی دارد.

واژگان کلیدی: بروملین، فعالیت ورزشی، آپوپتوز، تومور، سرطان

* نویسنده مسئول:

دکتر حسین عابد نطنزی، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران. پست الکترونیک: abednazari@gmail.com

مقدمه:

سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است که بار اجتماعی و اقتصادی سنگینی بر بخش بهداشت عمومی کشورها دارد [۱]. درمان‌های سرطان به تنهایی یا در ترکیب با جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی و یا هورمون درمانی می‌تواند منجر به طیف وسیعی از عوارض از جمله از دست دادن عملکرد (عضلانی اسکلتی، قلبی عروقی، قلبی ریوی)، عفونت، اسهال، درد، بی‌حسی، ادم لنفاوی، حالت تهوع، خستگی، کاهش توده استخوانی و تغییرات ترکیب بدن و موارد دیگر شود [۲]. ملانوما[1] کشنده‌ترین و متاستاتیک[2]ترین شکل سرطان پوست است که در ملانوسیت ها ایجاد می‌شود و سالانه ده‌ها هزار نفر را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد و شیوع آن سریع‌تر از هر نوع سرطان دیگری در حال رشد است [۱]. در چند دهه گذشته، توجه بر درک اساس مولکولی سرطان‌زایی بیشتر شده است. مطالعات نشان داده است که عوامل و مکانیسم‌های متعددی در کنترل سرطان نقش دارند. یکی از این مکانیسم‌ها آپوپتوز[3] یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است که یک مکانیسم کلیدی تنظیم کننده رشد فیزیولوژیکی و هموستاز بافتی است. مرگ سلولی، عمدتا توسط آپوپتوز، نقش مهمی در تنظیم تشکیل تومور دارد و همچنین پاسخ درمانی را تعیین می‌کند [۳]. به نظر می‌رسد که میتوکندری نقش اساسی در تنظیم وقایع آپوپتوزی دارد. در این راستا اعضای خانواده Bcl-2 از جمله پروتئین های Bax و Bcl-2 به عنوان پروتئین‌های اصلی در تشکیل کانال‌های آپوپتوز، تنظیم نفوذپذیری میتوکندری و پیام‌رسانی آپوپتوز میتوکندری نقش دارند. نسبت Bax/Bcl-2 نیز شاخصی برای تعیین پتانسیل آپوپتوز میتوکندری است. در این راستا، Bcl-2 از طریق جلوگیری از الیگومریزاسیون[4] Bax-Bax، با فعالیت پروآپوپتوتیک[5] Bax مخالفت می‌کند. به محض اینکه پروتئین Bax وارد میتوکندری شود، منافذ غشای میتوکندری را تشکیل می‌دهد که منجر به آزاد شدن پروتئین‌هایی مانند سیتوکروم C[6] به داخل سیتوزول[7] می‌شود و آبشار کاسپاز[8] سیگنال آپوپتوز پایین‌دست مانند کاسپاز ۳ و ۹ را تحریک می‌کند. پروتئین Bcl-2 با ورود به غشای خارجی میتوکندری، یکپارچگی غشا را حفظ می‌کند و از طریق حذف یون‌های هیدروژن از کانال‌های یونی و از طریق اتصال به APAF-1[9]، فعال شدن کاسپاز را مهار می‌کند [۴].

تحقیقات بالینی فعالیت ورزشی را به عنوان یک مداخله ایمن و موثر برای مقابله با بسیاری از اثرات نامطلوب جسمی و روانی سرطان و درمان آن معرفی کرده است. تا به امروز، شواهد قوی مبنی بر تاثیر فعالیت ورزشی برای بهبود عملکرد فیزیکی (از جمله آمادگی هوازی، قدرت عضلانی و توانایی عملکردی)، کاهش خستگی مرتبط با سرطان، کاهش ناراحتی روانی و بهبود کیفیت زندگی در چندین حوزه سلامت عمومی وجود دارد. شواهد جدید نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی منظم قبل، در حین و بعد از درمان سرطان، شدت عوارض جانبی را کاهش داده و با کاهش خطر ابتلا به سرطان‌های دیگر و سایر بیماری‌های همراه مانند بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت و پوکی استخوان همراه است. همچنین تحقیقات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که فعالیت بدنی اثر محافظتی در برابر عود سرطان، مرگ و میر خاص سرطان و مرگ و میر ناشی از همه علل برای برخی از انواع سرطان ایجاد می‌کند. اما تحقیقات عمدتا بر روی سرطان سینه، کولورکتال و پروستات متمرکز شده است. در همین راستا، تعدادی آزمایش بالینی برای ارزیابی دقیق اثرات ورزش بر بقای سرطان در حال انجام است [۵]. علی‌رغم وجود یافته‌های حاکی بر ارتباط رفتارهای رژیمی و مبتنی بر فعالیت با بروز سرطان، رابطه علی بین این رفتارها و القا و پیشرفت سرطان ثابت نشده است [۶] و اطلاعات محدودی در مورد اثرات فعالیت بدنی و ورزش بر پیش‌آگهی و کیفیت زندگی در طول درمان و پس از درمان سرطان وجود دارد [۱]. با توجه به نتایج مطالعات حاضر می‌توان نتیجه گرفت که ورزش هوازی به عنوان یک استراتژی غیردارویی،

[1] Melanoma
[2] Metastatic
[3] Apoptosis
[4] Oligomeration
[5] Proapoptotic
[6] Cytochrome C
[7] Cytosol
[8] Caspase
[9] Apoptotic peptidase activating factor 1

کم‌هزینه و موثر می‌تواند با کاهش سطوح پروآپوپتوتیک و افزایش مقادیر فاکتورهای ضدآپوپتوز مورد توجه قرارگیرد [۴].

همچنین در طول دو دهه گذشته، مطالعات جهت تعیین اثرات دارویی ترکیبات زیست‌فعال مورد استفاده برای درمان و پیشگیری سرطان به طور چشمگیری افزایش یافته است. بنابراین، ارزیابی مزایای بالقوه ترکیبات فعال زیستی که از میوه‌ها و سبزیجات قابل مصرف به دست می‌آیند ممکن است منجر به شناسایی مواد شیمیایی نوینی شود [۷]. بروملین[1] یک عصاره از آناناس است که از آنزیم‌های پروتئولیتیک حاوی سولفیدریل به عنوان اجزای اصلی و سایر انواع آنزیم‌ها و اجزای غیرپروتئولیتیک تشکیل شده است [۸]. این ترکیب که نشان داده شده است از ساقه و میوه‌های نارس آناناس[2] استخراج می‌شود، دارای خواص ضد التهابی، ضد ادم، ضد سرطانی و ضدترومبوتیک است [۷] و به دلیل عوارض جانبی کم و دسترسی زیاد مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است [۹]. بروملین دارای خواص ضد سرطانی روی رده‌های مختلف سلولی سرطانی است [۱۰] و گزارش شده است که مستقیما از تکثیر سلول‌های سرطانی ملانوما در محیط کشت سلول جلوگیری می‌کند [۱۱]. بروملین ویژگی ضد سرطانی خود را در مواجهه با رده‌های سلولی سرطانی انسان مانند لنفوم، لوسمی، ساکروما، ملانوم، کارسینوم کولورکتال، کارسینوم ریه، کارسینوم معده، سرطان سینه و گلیوم نشان داده است. بروملین می‌تواند منجر به افزایش بیان ژن‌های p53، Bax و کاهش پروتئین‌های مسیر پیام رسانی Akt شود [۱۰]. بروملین به دلیل اثربخشی، ایمنی و نداشتن عوارض جانبی به عنوان یک داروی خوراکی گیاهی پذیرفته شده است [۱۲]. علاوه بر این، به علت خواص ضد سرطانی بروملین [۸]، در حال حاضر از نظر بالینی به عنوان ترکیب مکمل در شیمی‌درمانی استفاده می‌شود [۱۳]. با این حال، برای کاربرد مناسب بروملین، کاوش بیشتر در مورد مکانیسم اثر آن مورد نیاز است [۹].

با توجه به نتایج امیدوارکننده در مورد تاثیر مثبت فعالیت ورزشی از یک طرف و استفاده از بروملین بعنوان درمان کمکی سرطان از طرفی دیگر، این مطالعه، با هدف بررسی ترکیب تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بر بیان ژن Bax، Bcl-2 و نسبت Bax/Bcl-2 در بافت کبد و حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما طراحی گردیده است.

مواد و روش‌ها:

جامعه و نمونه آماری:

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش‌های نر C57BL/6 تشکیل می‌دادند که از بین آنها، ۳۲ سر موش نر شش تا هشت هفته‌ای با دامنه وزنی ۱۲ تا ۱۴ گرم بودند که با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شدند و در هنگام خرید در همین محدوده وزنی بودند. نمونه‌های آماری از انستیتو پاستور خریداری و به اتاق نگهداری حیوانات آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله تهران منتقل شدند. موش‌ها به صورت تصادفی تقسیم شدند و در تعداد مساوی شامل هشت سر موش در هر گروه مجموعا در چهار قرار گرفتند.

عصاره‌گیری از میوه آناناس:

میوه آناناس تهیه شد 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 گردید. جهت عصاره گیری از میوه آناناس از روش خیساندن در دمای ۴ درجه سانتیگراد استفاده شد. به ازای هر ۷ گرم پودر آناناس، ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۵ درصد استفاده شد. عصاره حاصل شده در بن ماری[3] ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا حلال به طور کامل تبخیر شود. عصاره خشک بدست آمده تا زمان استفاده، درون یخچال نگهداری شد. به طور خلاصه، پس از توزین میوه آناناس، پوست آن جدا و پارانشیم آن خارج شد و با استفاده از دستگاه مخلوط‌کن، مخلوط یکنواخت و همگنی تهیه گردید. پس از سانتریفوژ مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه ، فیبره در قسمت پایینی و عصاره در قسمت بالایی لوله قرار گرفت. این عصاره با آب مقطر رقیق شد و در نتیجه عصاره ۲۰ درصد مورد استفاده قرار گرفت. نرمال سالین و عصاره

[1] Bromelin
[2] Ananas comosus
[3] Bain marie

آناناس (۳۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در وزن بدن) به وسیله گاواژ به موش‌های مورد مطالعه خورانده شد [۱۴].

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[1] غنی شده با FBS[2] ده درصد همراه با آنتی بیوتیک پنی‌سیلین استرپتومایسین استفاده شد. درابتدا به منظور تهیه و استخراج بافت توموری از موش‌های استوک[3]، موش‌ها با روش نخاعی کشته شدند. سپس ناحیه تومور 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 تومور حاصل با یک تیغ بیستوری به قطعات دو تا سه میلی‌متری تقسیم شد. بافت تومور به صورت خالص قطعه قطعه شد بدین صورت که در حین قطعه کردن بافت تومور چربی‌ها و عروق اضافه از تومور جداسازی شد. قطعات توموری به یک پلیت استریل حاوی سرم فیزیولوژی منتقل شد تا برای جراحی مورد استفاده قرار بگیرد.

جهت شروع جراحی موش‌ها با مخلوط داروی زایلزین[4] و کتامین[5] به ترتیب به نسبت ۱ به ۲ حل شده در محلول سرم فیزیولوژی استریل مورد بیهوشی قرار گرفتند (مقدار داروها برای بیهوشی ۵ سر موش شامل ۴۰ میکرولیتر زایلزین 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 پهلوی شیو شده یک برش کوچک ایجاد شد، سپس با کمک پنس کانال باریکی در زیر پوست ایجاد شد. در مرحله بعدی یک قطعه از بافت توموری استخراج شده از موش استوک به انتهای کانال ایجاد شده در زیر پوست موش سالم منتقل شد و محل برش پوست موش سالم به کمک چسب و منگنه مخصوص بخیه مسدود شد. محل بخیه جراحی با بتادین ضدعفونی گردید. پس از جراحی به منظور ریکاوری، موش ها در یک قفس جداگانه و در یک اتاق با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. همچنین موش‌ها به صورت هفتگی جهت بررسی روند رشد تومور مورد معاینه قرار می‌گرفتند [۱۶].

به منظور تطابق موش ها با محیط جدید، موش‌ها به مدت یک هفته در آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از آشناسازی، موش‌ها به صورت تصادفی و باتوجه به همگن سازی وزن به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. هر چهار سر موش در یک قفس پلی‌کربنات مخصوص نگهداری می‌شدند. پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه، سلول‌های سرطانی به شرح ذکر شده در پاراگراف بالا به موش‌ها تزریق شد. یک هفته پس از تزریق سلول‌های سرطانی، زمانی که بافت تومور در جایگاه تزریق سلول‌های سرطانی قابل لمس و مشاهده بود، پروتکل پژوهشی آغاز شد. در انتهای چهار هفته برنامه تمرینی، خونگیری، بافت برداری و اندازه‌گیری وزن موش و حجم تومور انجام گرفت.

اندازه‌گیری حجم تومور

همه موش‌ها هم در ابتدا و هم به صورت هفتگی با استفاده از ترازو وزن شدند. حجم تومور در دو بعد اندازه‌گیری شد. بزرگترین بعد تومور به عنوان طول (L) و بعد دیگر (در زاویه ۹۰ درجه) به عنوان عرض (W) در نظر گرفته شد. پس از پیدایش تومور، هر هفته یک بار طول و عرض تومور توسط ابزار کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد و در فرمول محاسباتی حجم تومور $[V=\pi/6\ (w\times L^2)]$ قرار گرفت [۱۶].

برنامه تمرین هوازی

تمرین هوازی در پژوهش حاضر شامل چهار هفته دویدن روی نوارگردان بود که بعد از یک هفته آشناسازی با نوارگردان شروع شد. آشناسازی با سرعت ۶ تا ۱۰متر بر دقیقه مجموعا به مدت ۲۰ دقیقه در هر نوبت و به مدت یک هفته انجام شد. برنامه تمرین تداومی با سرعت ۱۴ متر در دقیقه مجموعا به مدت ۲۵ دقیقه در هر نوبت در

[1] Roswell Park Memorial Institute Medium
[2] Fetal bovine serum
[3] Stock
[4] Xylazine
[5] Ketamine

جدول ۱- برنامه تمرین هوازی چهار هفته‌ای

متغیرهای تمرین / دوره تمرین	سرعت(متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)	تکرار (روز در هفته)
آشناسازی	۶-۱۰	۲۰	۵
دو هفته اول	۱۴	۲۵	۵
دو هفته دوم	۱۶	۳۰	۵

دو هفته اول مطالعه شروع شد و در نهایت در دو هفته آخر به ۱۶ متر در دقیقه مجموعا به مدت ۳۰ در هر نوبت رسید. برنامه تمرین تداومی به صورت کامل در جدول ۱ نشان داده شده است. در این جدول، به منظور از بین بردن اثر استرس نوارگردان بر متغیرهای مورد بررسی، موش‌های گروه کنترل نیز به اندازه مدت زمان برنامه تمرین ورزشی (بین ۲۰ تا ۳۰ دقیقه) روی نوارگردان خاموش قرار داده شدند [۱۷].

روش بیان ژن Bax، Bcl-2 در بافت کبد:

بافت کبد نیز به منظور اندازه‌گیری بیان ژن جدا و بلافاصله توسط ازت مایع به فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. مقداری از بافت کبد برای انجام مراحل RT-PCR درون RNAlater و سپس در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در مرحله بعد RNA با استفاده از کیت RiboExTotal 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 RTcDNA Synthesis (SolisBioDyne) ساخته شد و به فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی گراد انتقال داده شد. سپس برای بررسی بیان ژن‌ها، پرایمرهای[1] مورد استفاده در این پژوهش توسط نرم‌افزار Primer3 طراحی شد و توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

بیان ژن‌ها 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 میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد تا حجم مواد به ۲۰ میکرولیتر برسد. سپس نمونه‌ها در دستگاه Rotor-Gene Q real-time PCR cycler (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 دستگاه تنظیم و اجرا شد. در نهایت محصولات PCR به منظور بررسی اختصاصی بر روی ژل آگاروز ۱ درصد منتقل شد (جدول ۳).

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 22 تجزیه و تحلیل شدند. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. آزمون شپیرو-ویلک[2] جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و آزمون لوین[3] برای تجانس واریانس‌ها و از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک راهه[4] و آزمون تعقیبی بنفرونی[5] جهت مقایسه تفاوت بین گروه‌ها و از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و شاخص تعیین اندازه اثر جهت مقایسه میزان تاثیر هر یک از متغیرهای مستقل استفاده گردید. آنالیز آماری بیان ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 انجام شد. سطح معناداری $p \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

[1] Primer

[2] Shapiro-Wilk test
[3] Levene's test
[4] ANOVA
[5] Bonferroni correction test

جدول۲ - الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Oligo Name Genes	Primer Sequence (5′→3′)	Product size	Amplicon, bp	Gene Bank
Bax	For: CATCATGGGCTGGACACTG Rev: TCCCGAAGTAGGAAAGGAGG	۹۵	۱۷ ۱۷	NM_001191052.1
BCL-2Bcl-2	For: CTGTGGATGACTGAGTACCTGA For: GAGAAATCAAACAGAGGTCGCA	۱۱۶	۲۴ ۲۴	NM_001191052.1

جدول۳ - مراحل دمایی ریل تایم بیان ژن P53

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

یافته‌ها:

بیان ژن Bax نسبت به گروه کنترل درگروه های تجربی کاهش داشت که این کاهش درگروه آناناس و گروه تعاملی تمرین-آناناس بیشتر بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی نیز نشان می‌دهد کاهش بیان ژن Bax در گروه تعاملی تمرین-آناناس معنادار بود و در گروه‌های تمرین و آناناس کاهش غیر معناداری در بیان ژن Bax موش های مبتلا به سرطان ملانوما مشاهده شد. با این حال، ترکیب تمرین و عصاره آناناس بیان ژن Bax موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما را بیشتر کاهش داد چرا که شاخص اندازه اثر گروه تعاملی تمرین-آناناس بیشتر بود.

بیان ژن Bcl-2 نسبت به گروه کنترل درگروه‌های تجربی افزایش داشت که این افزایش درگروه آناناس و گروه تعاملی تمرین-آناناس بیشتر بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی نیز نشان می‌دهد افزایش بیان ژن Bcl-2 در گروه های تجربی نسبت به کنترل و با یکدیگر معنادار نیست ولی در گروه عصاره آناناس بیان ژن Bcl-2 موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما افزایش بیشتری دارد. شایان ذکر است شاخص اندازه اثر گروه تعاملی تمرین- آناناس بیشتر بود.

نسبت بیان ژن Bax/Bcl-2 درگروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش داشت به نحوی که این کاهش درگروه آناناس و گروه تعاملی تمرین-آناناس بیشتر بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی نیز نشان می‌دهد نسبت بیان ژن Bax/Bcl-2 درگروه های تجربی تمرین هوازی و آناناس و تعاملی تمرین- آناناس معنادار است. همچنین شاخص اندازه اثر گروه تعاملی تمرین- آناناس و گروه تمرین هوازی بیشتر بود. نمودار ۱ تا ۳ تغییرات ژن‌های Bax، Bcl-2 و Bax/Bcl-2 در بافت کبد موش‌های گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. در جدول ۴ نیز نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی بنفرونی و نیز اندازه اثرگروه‌های پژوهش ارائه گردیده است.

بحث:

در تحقیق حاضر تمرینات هوازی به‌همراه مصرف مکمل بروملین موجب افزایش بیان ژن ضد آپوپتوزی Bcl2 و کاهش بیان ژن Bax در بافت کبدی گردید. نتایج مطالعه حاضر همسو با نتایج مطالعاتی است که اثر مثبت فعالیت ورزشی را بر تنظیم آپوپتوز (کاهش Bax، افزایش Bcl-2) نشان می‌دهند [۱۸-۲۲]. حساسیت سلول به آپوپتوز به تعادل و نسبت عوامل پیش‌آپوپتوزی (Bid و Bax) و ضد آپوپتوزی (XL-Bcl و Bcl-2) بستگی دارد و درحقیقت نسبت متوسط این پروتئین‌ها با یکدیگر سرنوشت مرگ سلول را تعیین می‌کند [۲۳]. پروتئین‌های خانواده Bcl-2 از مهم‌ترین نوع پروتئین‌ها در تنظیم آپوپتوز هستند که در تحقیق حاضر در بافت کبد بررسی شدند. مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی سلول را به سوی مرگ برنامه‌ریزی‌شده یا همان آپوپتوز می‌برند

جدول ۴ - نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی بنفرونی و نیز اندازه اثرگروه‌ها

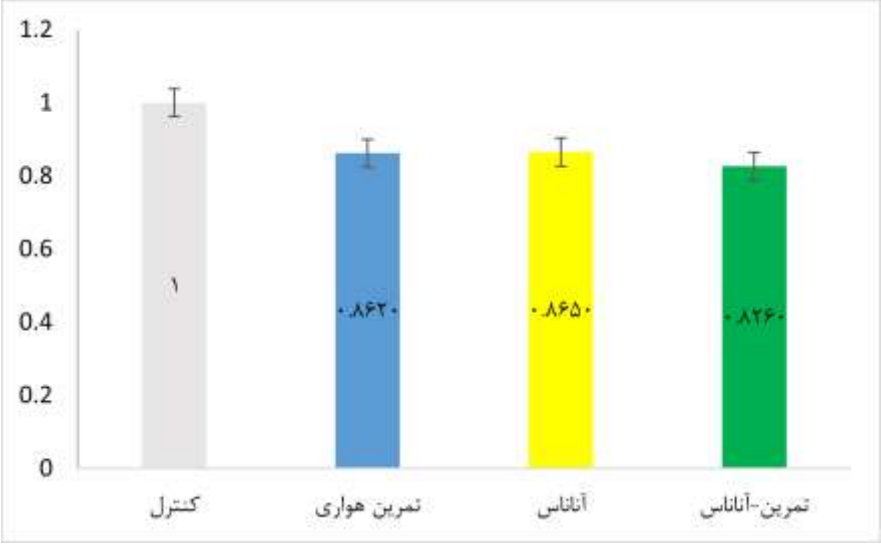
متغیر/شاخص آماری		گروه‌ها	F	معناداری	اندازه اثر	نتیجه
حجم تومور (میلی متر مکعب)	کنترل	هوازی	۱۰/۸	۰/۰۰۵	۰/۸۶	
		آناناس	۱۲/۷	۰/۰۰۳	۰/۹۶	*
		هوازی + آناناس	۰/۵۹	۰/۴۵۴	۰/۱۱	*
ژن Bax	کنترل	هوازی	۱/۶۹	۰/۲۱	۰/۱۰۱	
		آناناس	۱/۹۴	۰/۱۸	۰/۱۱۵	
		هوازی + آناناس	۵/۰۹	۰/۰۳۹	۰/۲۵۳	*
ژن BCL-2Bcl-2	کنترل	هوازی	۱/۹۴	۰/۱۸	۰/۱۱۵	
		آناناس	۱/۱۸	۰/۲۹	۰/۰۷۳	
		هوازی + آناناس	۲/۹۶	۰/۱۶۵	۰/۱۶۵	
نسبت Bax/BCL-2Bcl-2	کنترل	هوازی	۱۴/۳	۰/۰۰۲	۰/۴۸۸	*
		آناناس	۱۳/۵	۰/۰۰۲	۰/۴۷۵	*
		هوازی + آناناس	۲۰/۹	۰/۰۰۰۱	۰/۵۸۳	*

علامت * نشان دهنده معناداری است.

که در این فرآیند پروتئین‌های ویژه‌ای به‌عنوان فاکتورهای آپوپتوزی نقش دارند. این پروتئین‌ها عواملی هستند که درنهایت ترکیبات کلیدی سلول همچون پروتئین‌های ساختاری اسکلت سلولی و پروتئین‌های هسته‌ای را تخریب می‌کنند [۲۴]. مکانیزم‌های حفاظت سلول در برابر آپوپتوز ممکن است توسط NF-κB[1] تحت‌تاثیر قرار بگیرد. بدین نحو که مانع از حساسیت سلول به آپوپتوز شوند و افزایش سلول‌های ضدآپوپتوتیک Bcl-2 را تقویت کنند [۲۵]. بیان افزایش یافته عامل ضدآپوپتوزی Bcl2 در کاهش آسیب بافت کبد و بهبود عملکرد کبد موثر است [۲۰]. در پژوهش‌های قبلی مشاهده شده است که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bax و افزایش پروتئین ضدآپوپتیک Bcl-2 و درنتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم C، مانع فعال‌شدن کاسپاز[2] ۹ شود. کاسپاز ۹ نیز با فعال‌کردن کاسپاز ۳ می‌تواند به تنظیم مثبت روند آپوپتوز منجر شود [۲۶]. در پژوهش حاضر سطوح کاسپازهای ۳ و ۹ تعیین نشد که این امر می‌تواند از محدودیت‌های این پژوهش به شمار رود. تحقیقات موجود نشان می‌دهند که ممکن است بهبود عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تعدیل آپوپتوز نقش داشته باشد. این دیدگاه مهم اهمیت ورزش‌درمانی را در بهبود سیگنال‌دهی آنتی‌اکسیدان جهت کاستن آپوپتوز برجسته می‌کند [۲۷]. نهایتا، با سازگاری تمرین، عوامل اکسیدانی، التهابی، پروفایل‌های چربی عوامل آپوپتوزی مانند کاسپاز ۳ کاهش می‌یابند. درمقابل، عوامل آنتی‌اکسیدانی پیش‌بقای سلولی مانند مسیر Akt/PI3K/R-IGF1 افزایش می‌یابند که درمجموع می‌توانند آپوپتوز را کاهش دهند [۲۱].

همان گونه که قبلا اشاره شد، مطالعات موجود حاکی از اثر معنادار تمرین در کاهش معنادار سطوح Bax است [۱۸-۲۲]. نتایج مطالعه حاضر همسو با نتایج مطالعه لی و همکاران است که کاهش Bax در موش های چاق بی تحرک را پس از سه ماه دویدن بر روی تردمیل گزارش کردند [۲۸]. اگرچه مکانیسم فرآیند تغییرات Bax به طور واضح مشخص نیست، اما با توجه به اینکه Bcl-2 مانع از افزایش Bax می‌شود، در مطالعه ما نیز مشاهده گردید که Bcl-2 در گروه‌های تجربی افزایش می‌یابد. بنابراین، به نظر می‌رسد این افزایش می‌تواند یکی از مکانسیم‌های سرکوب Bax باشد.

[1] Nuclear Factor Kappa B
[2] Caspase



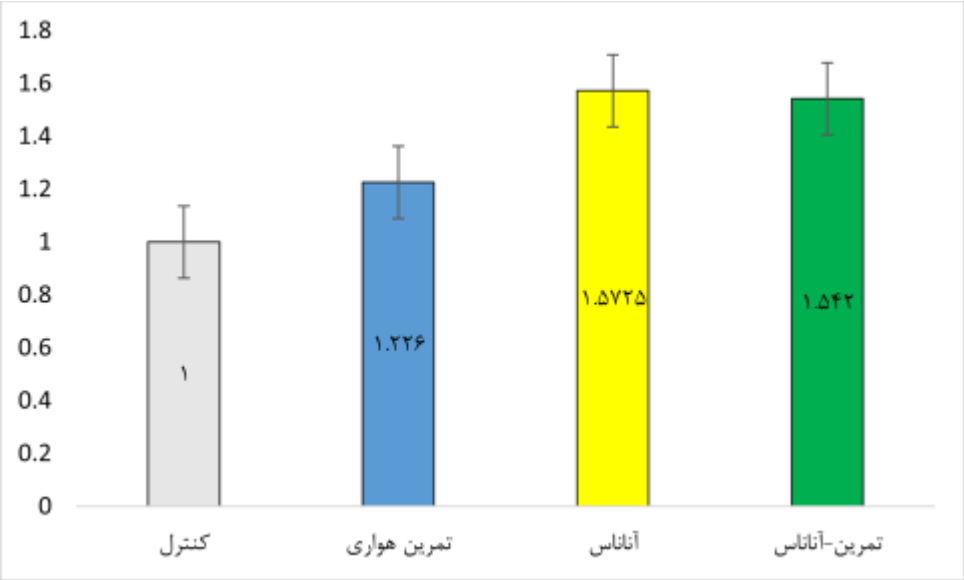
نمودار ۱- تغییرات ژن Bax موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما

افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری، سرکوب Bax، جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم C، تنظیم کلسیم رها شده از سارکوپلاسم و کاهش اثر گونه‌های اکسیژن ناشی از فعالیت ورزشی، ایمنی سلول را بالا می‌برد و از فعال شدن آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می‌کند [۲۰]. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر از پروتکل چندهفته‌ای استفاده شد، این احتمال وجود دارد که سازگاری‌های ناشی از تمرین سبب فعال‌سازی مسیرهای ضدآپوپتوزی شده باشد .

همچنین کاهش نسبت Bax/Bcl-2 در نتیجه فعالیت ورزشی و مکمل بروملین در مطالعه حاضر دیده شد. سرنوشت نهایی سلول توسط نسبت Bax/Bcl-2 تعیین می‌شود. بدین صورت که افزایش نسبت Bax به Bcl2 سبب میل سلول به سمت آپوپتوز و عکس آن مانع از پیشرفت آپوپتوز می شود [۲۹]. از آنجایی‌که ورزش منظم منجر به کاهش سطح اینترلوکین ۶ می‌شود، بنابراین یکی از مکانیسم های احتمالی کاهش نسبت Bax/Bcl-2 می‌تواند ناشی از کاهش اینترلوکین ۶ باشد. از طرفی دیگر، محققان نشان دادند که تمرین ورزش سبب کاهش پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی در عضله قلبی موش‌های سالم می‌شود. تغییر در نسبت Bax/Bcl2 باعث رهایش سیتوکروم C از میتوکندری به درون سیتوزول می‌گردد. سپس سیتوکروم C سیتوزولی به APAF-1 متصل می‌شود و منجر به فعال سازی کاسپاز ۳ و PARP[1] می‌شود. این فرآیندها حاکی از نقش مهم کاسپازها در آپوپتوز است [۳۰].

از سوی دیگر، مطالعات متعددی در ارتباط با اثرات ضد سرطانی بروملین وجود دارند [۳۱]. اثرات ضد سرطانی ترکیبات پلی‌فنولی به‌طور عمده به دلیل توانایی ایجاد توقف در چرخه سلولی، مهار کانال‌های سیگنال انکوژنیک[2] کنترل‌کننده تکثیر سلولی، آنژیوژنز[3]،آپوپتوز، مدولاسیون[4] سطوح ترکیبات ROS[5]، تقویت پروتئین‌های سرکوب‌کننده تومور مانند p53 و افزایش تمایز و تغییر شکل سلول‌های طبیعی می‌باشد [۳۲]. تصور می‌شود که مولکول‌هایی با اثر ضد اکسیداتیو و ضد التهابی وجود دارند که در درمان بیماری‌های التهابی و بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در نتیجه تولید ترکیبات ROS موثر باشند. بروملین دارای فعالیت آنتی اکسیدانی برای مهار پراکسیداسیون لیپیدی و رادیکال‌های آزاد است. بروملین مخلوطی از تیول اندوپپتیدازها، فسفاتازها، گلوکوزیدازها، پراکسیدازها، سلولازها، گلیکوپروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چندین مهارکننده پروتئاز است. در حالی‌که بدن معمولا تکثیر و

[1] Poly-ADP ribose polymerase
[2] Oncogenic
[3] Angiogenesis
[4] Medulation
[5] Reactive oxygen species

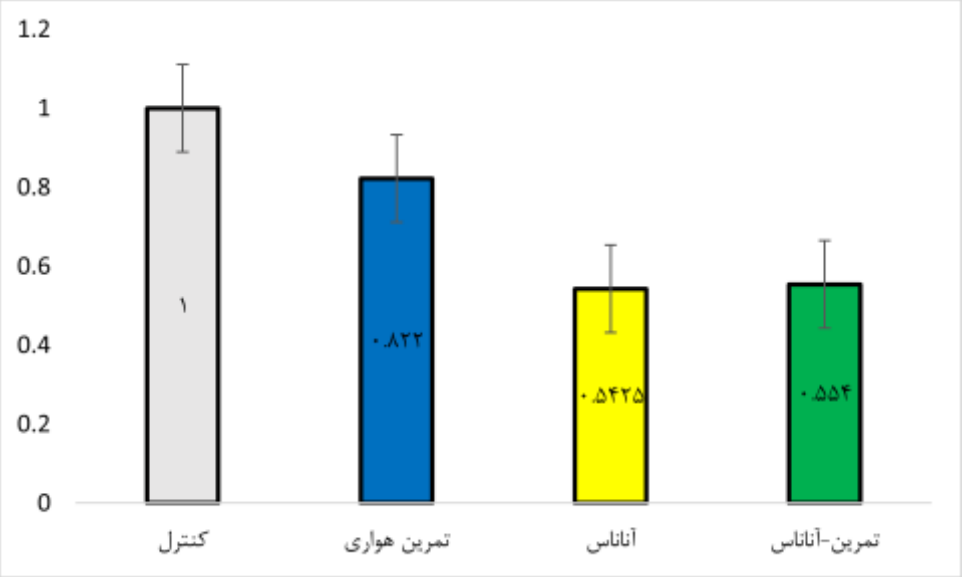


نمودار ۲ - تغییرات ژن Bcl-2 موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما

رشد سلولی را تنظیم می‌کند، نابرابری چرخه سلولی می‌تواند منجر به تخریب رشد سلولی شود و یک سلول طبیعی را به یک سلول سرطانی تبدیل کند. مکانیسم‌های متعددی در داخل سلول ها از DNA آنها در برابر تنوع ژنومی مضر و سموم محافظت می‌کند [۳۳]. التهاب به عنوان یکی از ضروریات در طول توسعه سرطان در مرحله تبدیل سلولی، رشد سلولی، متاستاز و رگ‌زایی شناخته می‌شود. نشان داده شده است که با سرکوب التهاب مزمن می‌توان پیشرفت سرطان را سرکوب کرد و احتمال بروز سرطان را کاهش داد. التهاب مزمن بسته به نوع تومور و ریزاطراف تومور در ایجاد بیماری‌های مزمن از جمله سرطان نقش دارد. التهاب‌ها برای پیشرفت به پروتئین پیش‌التهاب نیاز دارند . به عنوان مثال ، در جریان فرآیند التهاب پروستاگلاندین E2 (PGE-2) سنتز شده توسط سیلکواکسیژناز-۲[1] (COX-2) می‌تواند به عنوان یک مولکول مهم در التهاب مرتبط با سرطان تبدیل شود. در همین راستا، برخی از مطالعات نشان داده‌اند که بروملین با مهار فعالیت COX-2 با الگوبرداری از کاهش سطوح COX-2 و PEG-2، می‌تواند التهاب را کاهش دهد. همچنین نشان داده شده است که بروملین می‌تواند مهاجرت نوتروفیل‌ها به محل‌های التهابی را کاهش دهد، بنابراین بیان سیتوکین‌ها را کاهش می‌دهد که به تقویت واکنش‌های التهابی کمک می‌کند. اکثر واسطه‌های پیش التهابی توسط بروملین حذف می‌شوند که نشان دهنده عملکرد قابل توجه این ترکیب به عنوان یک عامل ضد التهاب در شرایط و محیط مختلف است [۳۴]. یکی از مولکول‌های سیگنال دهنده مرتبط با التهاب، کیناز فعال شده با میتوژن[2] (MAPK) است. دو کلاس از MAPK شامل کیناز تنظیم شده با سیگنال خارج سلولی[3] (ERK) و کیناز c-Jun (JNK) وجود دارد. ERK در تکثیر و تمایز سلولی نقش دارد و توسط محرک‌هایی مانند فاکتورهای رشد و سیتوکینها فعال می‌شود. در مقابل، به دنبال عفونت ویروسی، JNK در تمایز سلولی و آپوپتوز نقش دارد. هوانگ و همکاران دریافته‌اند که بروملین فسفوریلاسیون[4] ERK1/2 و JNK را سرکوب می‌کند. همچنین، در مطالعه لی و همکاران نشان داده شده است که بروملین به طور قابل توجهی بیان c-Fos را سرکوب نموده و بیان آن را کاهش می‌دهد. کاهش فسفوریلاسیون JNK احتمالا منجر به مهار رونویسی خانواده c-Fos و c-Jun می‌شود. علاوه بر این، بروملین به طور قابل

[1] Cyclooxygenase-2

[2] Mitogen-activated protein kinases (MAPK)
[3] Extracellular signal-regulated kinases (ERK),
[4] Phosphorylation



نمودار ۳ - تغییرات Bax /Bcl-2 موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما

توجهی فسفوریلاسیون c-Jun را می‌کاهد. بروملین بیان نیتریک اکسید سنتاز القایی[1] (iNOS) و COX-2 را احتمالا در نتیجه مهار فسفوریلاسیون ERK و p-38 نیز مهار می‌نماید [۳۵].

نتیجه‌گیری:

نتایج مطالعه حاضر بر این نکته تاکید دارد که تمرین ورزشی به صورت هوازی نقش موثری در پیشگیری از رشد تومور و کاهش سطوح عوامل آپوپتوزی و اکسیدانی دارد. تاثیرات تعاملی تمرین هوازی با عصاره آناناس در حجم تومور و برخی عوامل دیگر برجسته و مشهود بود، اما تغییرات توده عضلانی اندازه‌گیری نشد. به نظر می‌رسد اثرات ضد توموری تمرینات ورزشی حتی در دوره‌های کوتاه‌مدت تمرین نیز قابل حصول است، اما به منظور مشاهده تغییرات بیشتر در عوامل آپوپتوزی و ضدآپوپتوزی، التهابی و ضدالتهابی، ترکیب بدنی و توده عضلانی باید طول دوره تمرینی با استفاده از تعاملات تغذیه‌ای با دوز مناسب بیشتر از شش هفته ادامه یابد و از تمرینات مقاومتی و دوزهای متفاوت آناناس نیز استفاده گردد. با این وجود نوع تومور القا شده نیز بسیار مهم است و می‌تواند در حصول نتیجه بسیار موثر باشد.

[1] Inducible Nitric Oxide Synthase

تشکر و قدردانی:

این مقاله مستخرج از رساله دکتری حمیده طاولی بود و با کد اخلاق IR.SSRC.REC.1399.178 در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تایید شد. لذا از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع:

1) Xia Z, Shang H, Cholewa J, et al. The effect of exercise on gene expression and signaling in mouse melanoma tumors. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2020;52(7):1485-1494.
2) Hayes SC, Spence RR, Galvão DA, Newton RU. Australian Association for Exercise and Sport Science position stand: optimising cancer outcomes through exercise. Journal of Science and Medicine in Sport. 2009;12(4):428-434.
3) Ramadan MA, Shawkey AE, Rabeh MA, Abdellatif AO. Expression of P53, BAX, and BCL-2 in human malignant melanoma and squamous cell carcinoma cells after tea tree oil treatment in vitro. Cytotechnology. 2019;71(1):461-473.
4) Bostani M, Noaein SA. The Effect of Continuous Aerobic Training on Bax/Bcl-2 Ratio in Pancreatic Tissue Diabetic Rats. Iranian Journal of Diabetes and Obesity. 2021;13(3):173-177.

5) Cormie P, Atkinson M, Bucci L, et al. Clinical Oncology Society of Australia position statement on exercise in cancer care. Medical Journal of Australia. 2018;209(4):184-157.
6) Dos Santos CM, Diniz VL, Bachi AL, et al. Moderate physical exercise improves lymphocyte function in melanoma-bearing mice on a high-fat diet. Nutrition & Metabolism. 2019;16(1):1-5.
7) Dhandayuthapani S, Perez HD, Paroulek A, et al. Bromelain-induced apoptosis in GI-101A breast cancer cells. Journal of Medicinal Food. 2012;15(4):344-349.
8) Amini A, Masoumi-Moghaddam S, Ehteda A, Morris DL. Bromelain and N-acetylcysteine inhibit proliferation and survival of gastrointestinal cancer cells in vitro: significance of combination therapy. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2014;33(1):1-5.
9) Hikisz P, Bernasinska-Slomczewska J. Beneficial Properties of Bromelain. Nutrients. 202;13(12):4313.
10) Raeisi F, Raeisi E, Heidarian E, Shahbazi-Gahroui D, Lemoigne Y. Bromelain inhibitory effect on colony formation: an In vitro Study on human AGS, PC3, and MCF7 cancer cells. Journal of Medical Signals and Sensors. 2019;9(4):267.
11) Grabowska E, Eckert K, Fichtner I, Schulzeforster K, Maurer H. Bromelain proteases suppress growth, invasion and lung metastasis of B16F10 mouse melanoma cells. International Journal of Oncology. 1997;11(2):243-248.
12) São Paulo Barretto Miranda ÍK, Fontes Suzart Miranda A, Souza FV, et al. The biochemical characterization, stabilization studies and the antiproliferative effect of bromelain against B16F10 murine melanoma cells. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 2017;68(4):442-454.
13) Bhui K, Tyagi S, Srivastava AK, Singh M, Roy P, Singh R, Shukla Y. Bromelain inhibits nuclear factor kappa-B translocation, driving human epidermoid carcinoma A431 and melanoma A375 cells through G2/M arrest to apoptosis. Molecular Carcinogenesis. 2012;51(3):231-243.
14) Gholamian R, Nikoonahad Lotfabadi N, Haghiralssadat BF. Evaluation of antioxidant and cytotoxic effects of liposomes containing pineapple fruit extract on melanoma skin cancer (A375 Cell Line). SSU Journals. 2020;28(2):2411-2424.
15) Khori V, Shalamzari SA, Isanejad A, et al. Effects of exercise training together with tamoxifen in reducing mammary tumor burden in mice: possible underlying pathway of miR-21. European Journal of Pharmacology. 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. Journal of Applied Physiology. 2010;108(2):343-348.
17) Shalamzari SA, Agha-Alinejad H, Alizadeh S, et al. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2014;17(4):231.
18) Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. The FASEB Journal. 2004;18(10):1150-1152.
19) Habibi P, Alihemmati A, NourAzar A, Yousefi H, Mortazavi S, Ahmadiasl N. Expression of the Mir-133 and Bcl-2 could be affected by swimming training in the heart of ovariectomized rats. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2016;19(4):381.
20) Ahmadi M, Abbassi Daloii A, Salehi Kiasari S. Response of liver tissue bax and Bcl-2 gene expression to aerobic training with L-carnitine supplementation in rats toxicated by boldenone. Complementary Medicine Journal. 2020;9(4):3890-3901.
21) Alizadeh Pahavani H, Rajabi H, Nabiuni M, Motamedi P, Khaledi N, Tayanloo A. The effect of aerobic exercise with medium and high intensity on the gene expression of Bax (BCL-2 associated X) and Bcl-2 (B-Cell Lymphoma 2) markers in rat myocard after ischemic-reperfusion. Sport Physiology. 2020 ;12(45):31-44.
22) Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, Peng RY. Exercise ameliorates renal cell apoptosis in chronic kidney disease by intervening in the intrinsic and the extrinsic apoptotic pathways in a rat model. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013;368450. doi: 10.1155/2013/368450.
23) Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicologic Pathology. 2007;35(4):495-516.
24) Chrubasik JE, Roufogalis BD, Wagner H, Chrubasik S. A comprehensive review on the stinging nettle effect and efficacy profiles. Part II: urticae radix. Phytomedicine. 2007;14(7-8):568-579.
25) Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das DK. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. FEBS Letters. 2000;485(1):7-12.
26) Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, Peng RY. Exercise ameliorates renal cell apoptosis in chronic kidney disease by intervening in the

intrinsic and the extrinsic apoptotic pathways in a rat model. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013;368450. doi: 10.1155/2013/368450
27) MahmoodAbad SS, Noorbala MT, Mohammadi M, Rahaei Z, Ehrampush MH. Knowledge, attitude, and performance of students toward skin cancer in Yazd, 2009. International Journal of Dermatology. 201;50(10):1262-1265.
28) Lee SD, Shyu WC, Cheng IS, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2013;23(6):566-73.
29) Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicologic Pathology. 2007;35(4):495-516.
30) Kwak HB. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. Journal of Exercise Rehabilitation. 2013;9(2):212.
31) Chobotova K, Vernallis AB, Majid FA. Bromelain's activity and potential as an anti-cancer agent: current evidence and perspectives. Cancer Letters. 2010;290(2):148-156.
32) Anantharaju PG, Gowda PC, Vimalambike MG, Madhunapantula SV. An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. Nutrition Journal. 2016;15(1):1-6.
33) Lee JH, Lee JB, Lee JT, Park HR, Kim JB. Medicinal effects of bromelain (Ananas comosus) targeting oral environment as an anti-oxidant and anti-inflammatory agent. Journal of Food and Nutrition Research. 2018;6(12):773-784.
34) Noor SM, Roslan R, Fhong SC, Nayan NH. Bromelain as a potential material in future chemotherapy: a review. International Transaction Journal of Engineering, Management, & Applied Sciences & Technologies. 2022;13(6):1-2.
35) Lee C, Kim Y, Jeon JH. JNK and p38 mitogen-activated protein kinase pathways contribute to porcine epidemic diarrhea virus infection. Virus Research. 2016;222:1-2.

Nafas, Vol. 9, No. 3, Autumn 2022, Pages: 16-28

Original Article

The Effect of Aerobic Exercise and Pineapple Extract on Bax and Bcl2 Gene Expression and Bax/Bcl2 Ratio in Liver Tissue of Mice with Melanoma

Hamideh Tavoli[1], Hossein Abednatanzi[2*], Mohammad Ali Azarbayejani[3], Alireza Iranbakhsh[4]

1) School of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2) Department of sport Physiology School of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3) Department of Biology, Faculty of Convergent Sciences and Technologies, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract:
In recent decades, attention has been focused on understanding the molecular basis of carcinogenesis. One of the mechanisms is apoptosis or programmed cell death, which is a key regulator of physiological growth control and tissue homeostasis. This study was conducted to investigate the effect of aerobic exercise and pineapple extract on Bax and Bcl2 gene expression and Bax/Bcl-2 ratio in the liver tissue of mice with melanoma.
This study was performed on 32 C57 mice in four groups including control, aerobic exercise, pineapple extract, and pineapple-aerobic exercise. After tumor induction, the animals underwent aerobic exercise program for six weeks and pineapple extract gavage at 300 mg/kg. After preparation of blood and tissue samples, expression of liver tissue apoptotic genes was performed by RT-PCR. Then the data were analyzed using one-way analysis of variance, univariate, and post hoc. Significant level was considered as $p \leq 0.05$.
The results showed that Bax gene expression decreased compared to the control group in the experimental groups, and the decrease was more prominant in the pineapple and exercise-pineapple groups. Bcl-2 gene expression increased compared to the control group in the experimental groups, and the increase was more prominant in the pineapple and pineapple exercise groups. The expression ratio of Bax/Bcl-2 gene decreased in the experimental groups, and the decrease was more prominant in the pineapple and pineapple exercise groups.
Combined application of aerobics with pineapple extract had an effective role in preventing tumor growth and reducing apoptotis and increasing anti-apoptotic factors.
Keywords: Bromelain, Exercise, Apoptosis, Tumor, Cancer

[*] **Corresponding Author:**
Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. abednazari@gmail.com