

## اثر توأم کوئرتستین و ورزش بر استرس اکسیداتیو القا شده توسط سرطان کولون در بافت قلب موش صحرایی نر

پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۱۳

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۱

سجاد طزرچی<sup>۱</sup>، پروین اخلاص پور<sup>۲</sup>، فاطمه نظری رباطی<sup>۳</sup>، بهروز طلایی<sup>۱\*</sup>

۱. عضو کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه، گروه تغذیه، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران ۳. دانشجوی MPH، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی موثر بر سلامت، مرکز بهداشت شهرستان کرمان، کرمان، ایران

### چکیده

**مقدمه و هدف:** سرطان کولون چهارمین علت مرگ در جهان و دومین سرطان شایع در اروپا می‌باشد. حدود ۸٪ از کل مرگ و میرهای ناشی از سرطان به دلیل سرطان کولون رخ می‌دهد. این بیماری به دلیل رشد غیرطبیعی سلول‌ها اتفاق می‌افتد که می‌تواند به بافت‌های دیگر بدن حمله کنند یا در آنها تکثیر یابند. مطالعه حاضر جهت بررسی اثر توأم کوئرتستین و ورزش بر استرس اکسیداتیو القا شده به وسیله سرطان کولون در بافت قلب در مدل حیوانی طراحی شده است.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، تعداد ۸۰ موش صحرایی نر به دو گروه تحت درمان ( $n=70$ ) و کنترل ( $n=10$ ) تقسیم شدند. سرطان در حیوانات، از طریق تزریق زیرجلدی آزوکسی متان القاء و سپس به ۷ زیر گروه تجربی تحت درمان، سالین، کوئرتستین، ورزش تناوبی، ورزش تداومی، کوئرتستین به همراه ورزش تناوبی و کوئرتستین به همراه ورزش تداومی تقسیم شدند. بیومارکهای استرس اکسیداتیو شامل آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، مالون دی آلدئید (MDA) در بافت قلبی موش‌ها به روش ELISA اندازه‌گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آماری ANOVA و نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که تجویز کوئرتستین به تنهایی و یا همراه با تمرین ورزشی سبب افزایش معنی‌داری در میانگین آنزیم‌های CAT و SOD در بافت قلبی موش‌ها در مقایسه با گروه‌های تحت درمان و سالین گردید ( $p<0/001$ )، در حالی که سطح MDA کاهش معنی‌داری داشت ( $p<0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** سرطان کولون سبب افزایش استرس اکسیداتیو سلول‌های قلبی می‌گردد. اگرچه کوئرتستین به تنهایی سبب بهبود استرس اکسیداتیو در بافت قلبی گردید، درمان ترکیبی آن با تمرین ورزشی مؤثرتر می‌باشد.

**کلیدواژه‌ها:** استرس اکسیداتیو، سرطان کولون، ورزشی تناوبی و تداومی، کوئرتستین

\*نویسنده مسئول: عضو کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

نمبر: ۰۳۴۳۱۳۲۵۸۲۲

تلفن: ۰۹۱۲۵۵۸۱۲۰۲

ایمیل: b.talaei@kmu.ac.ir

## مقدمه

سرطان کولون چهارمین علت مرگ در جهان و دومین سرطان شایع در اروپا می‌باشد (۱). حدود ۸٪ از کل مرگ و میرهای ناشی از سرطان به دلیل سرطان کولون رخ می‌دهد. این بیماری به دلیل رشد غیرطبیعی سلول‌ها اتفاق می‌افتد که می‌تواند به بافت‌های دیگر بدن حمله کنند (متاستاز) یا در آنها تکثیر یابند (۲). تشخیص اولیه سرطان کولون در سال‌های اخیر، نقش قابل توجهی در بقاء داشته‌است (۳)، اما یکی از مشکلات مطرح این است که روش‌های درمانی اخیر برای مراحل پیشرفته سرطان کولون، اثرات زیانباری را متحمل سیستم سلامت و خود فرد بیمار می‌نماید (۴). بازدهی درمان حتی با توسعه داروهای جدید ضد سرطان، رضایت‌بخش نیست و انجمن سرطان‌شناسی بالینی آمریکا (ASCO) بر ضرورت داشتن یک رهیافت تازه در درمان سرطان تأکید می‌نماید. هدف اصلی در درمان سرطان کولون، بایستی استفاده هدفمند از مواد پیشگیری‌کننده از سرطان با مکانیزم شیمیایی<sup>۱</sup> باشد (۵).

Sliddiqu و همکاران (۶) با بررسی میزان اثرگذاری بر سرطان، تجویز یک یا چند ماده طبیعی یا سنتزی که بتواند از بازگشت بیماری سرطان پیشگیری کند یا روند پیشرفت بیماری سرطان را آهسته نماید را به‌عنوان ماده پیشگیری‌کننده از سرطان با مکانیزم شیمیایی تعریف کردند. هدف اصلی پیشگیری از سرطان با مکانیزم شیمیایی شناسایی اجزای طبیعی گیاهان خوراکی می‌باشد که از طریق مداخله با مسیرهای درون سلولی سلول‌های سرطانی، از رشد یا متاستاز سلول جلوگیری نماید (۵). مکانیزم اصلی که بیان‌کننده عملکرد پیشگیری‌کننده از سرطان با مکانیزم شیمیایی اجزای طبیعی گیاهان خوراکی هستند، شامل تعدیل در بیان ژن‌های تنظیم‌کننده تکثیر سلول، تعدیل در تمایز، تعدیل در آپوپتوز و توقف آنژیوژنیز و متاستاز می‌باشد (۷). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و همچنین فعالیت منظم تمرین‌های ورزشی یکی از مهم‌ترین فاکتورهایی هستند که امروزه نظر محققین زیادی را در جهت کنترل و درمان بیماری‌ها به خود جلب نموده‌اند (۸). انجام برخی فعالیت‌های فیزیکی و ورزش یکی از مؤثرترین روش‌های درمانی برای برخی اختلالات و بیماری‌ها محسوب می‌شوند (۹). برای مثال، اخیراً در یک مطالعه حاجی قاسم و همکاران نشان دادند که تمرین ورزشی تناوبی و تداومی با افزایش معنی-

داری در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) و نیز سطح مدیاتور ضد التهابی اینترلوکین-۱۰ (IL-10) در بافت کبدی همراه بوده‌است؛ در حالی که سطح مدیاتور التهابی فاکتور نکروزدهنده آلفا (TNF-a)، میزان پراکسیداسیون لیپیدی و همچنین تعداد سلول‌های آپوپتوز کبدی به طور معنی‌داری کاهش یافته بود (۱۰).

پلی فنول‌ها از متابولیت‌های ثانویه گیاهی و محافظت‌کننده از گیاه در برابر پرتو ماوراء بنفش، اکسیدان‌ها و پاتوژن‌ها هستند. فلاونوئیدها فراوانترین پلی فنول رژیم غذایی انسان می‌باشند. کوئرتستین با ساختار ۳، ۵، ۷ و ۳-۴-پنتا هیدروکسی فلاوون یکی از مهم‌ترین آنها در گروه فلاونوئیدهاست (۵، ۷). از جمله اثرات شناخته‌شده کوئرتستین می‌توان به خواص آنتی‌اکسیدانی، جلوگیری از اکسیداسیون صاف عروق، کاهش سطوح چربی سرمی، کاهش فشارخون سیستولی، کاهش وزن در حیوان، کاهش انسولین پلاسمایی، کاهش سطح مارکرهای التهابی پلاسما و اثرات ضد سرطانی اشاره نمود (۵، ۱۱-۱۳).

از مکانیزم‌های مولکولی پیشنهاد شده ضدسرطانی کوئرتستین می‌توان به اثر مستقیم کوئرتستین بر کاهش فعالیت Cyp1A7 در سرطان کولون (در فعال‌سازی کارسینوژن‌ها نقش دارد) (۱۱)، اثر بر شکست DNA، شکسته شدن PARP<sup>۲</sup> و افزایش Bax و اثر بر میزان Bcl-2 (ضدآپوپتوزیس) (۱۳)، کاهش سنتز سایتوکاین‌های التهابی و بیان iNOS<sup>۳</sup> (۱۴) اشاره نمود. از آنجایی که افزایش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب، اکنون به عنوان فاکتورهای مهم در پیشرفت بیماری کبد چرب غیرالکلی و سایر بیماری‌های مرتبط با آن محسوب می‌شوند، به‌نظر می‌رسد که مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها توأم با فعالیت ورزشی منظم با بهبود این وضعیت کمک زیادی در درمان و کاهش شدت اثرات آن داشته‌باشد (۱۵). با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بالای کوئرتستین، مصرف این ترکیب توأم با فعالیت‌های ورزشی در جهت بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت قلبی بیماران مبتلا به سرطان انجام نشده‌است. به همین منظور، هدف از این پژوهش، بررسی اثر یک دوره فعالیت ورزشی منظم به همراه مصرف مکمل کوئرتستین بر روی مارکرهای استرس اکسیداتیو شامل آنزیم‌های SOD و CAT و مالون دی آلدئید (MDA) در بافت قلبی موش‌های مبتلا به سرطان کولون می‌باشد.

<sup>۲</sup> Poly (ADP-ribose) Polymerase

<sup>۳</sup> Inducible Nitric Oxide Synthase

<sup>۱</sup> Cancer Chemoprevention

## روش کار

در این مطالعه تجربی، تعداد ۸۰ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ دالی (با سن ۴ تا ۵ هفته) با میانگین وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انتخاب و وارد تحقیق شدند. حجم نمونه بر اساس مطالعات قبلی انتخاب گردید. موش‌های مورد مطالعه در یک شرایط آب و هوایی کنترل شده (دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتیگراد، رطوبت  $5 \pm 50\%$  و یک سیکل شب و روز ۱۲:۱۲) و با رژیم غذایی استاندارد و آب مورد نیاز در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. در مرحله اول موش‌ها به دو گروه کنترل و تحت درمان (دریافت‌کننده آزوکسی متان) تقسیم شدند. موش‌ها در گروه کنترل به مدت ۳ هفته تحت رژیم غذایی استاندارد (شامل ۱۴٪ چربی، ۵۵٪ کربوهیدرات، ۲۸٪ پروتئین و ۳٪ سایر موارد) قرار گرفتند؛ در حالی که در موش‌های گروه تحت درمان، پس از سازگاری به محیط جدید، برای القای کارسینوم کولون، به کلیه حیوانات گروه ۷-۱، به صورت هفتگی، داروی شیمیایی آزوکسی متان (AOM<sup>۱</sup>) با دوز ۱۵ میلی گرم/کیلوگرم وزن (۵) به روش زیر جلدی تزریق شد. مدت زمان تزریق در هر هفته دو تزریق با فاصله مساوی، به مدت دو هفته (هفته چهارم و هفته پنجم) بود و پس از اتمام هفته پنجم در هفته ششم به منظور اطمینان از ایجاد کارسینوم تریس کولون دکستران سولفات سدیم ۲٪ (DSS<sup>۲</sup> 2%) به مدت ۷ روز در آب آشامیدنی رت‌ها افزوده گردید تا قبل از هفته چهارم تمام رت‌ها روی رژیم پایه قرار گرفتند. پس از آن، موش‌های گروه بیمار به ۷ زیرگروه ۱۰ تایی شامل: (۱) گروه تحت درمان، (۲) گروه دریافت‌کننده سالین، (۳) گروه دریافت‌کننده مکمل کوئرتستین، (۴) گروه تمرین تداومی، (۵) گروه تمرین تناوبی، (۶) گروه تمرین تداومی- کوئرتستین و (۷) گروه تمرین تناوبی- کوئرتستین تقسیم شدند.

قبل از شروع تمرین اصلی ورزشی، موش‌ها در گروه تمرین و گروه مکمل+ تمرین به منظور آشنایی با چگونگی فعالیت روی تردمیل، در یک هفته طی ۵ جلسه، به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. برنامه تمرینی اصلی به مدت ۸ هفته بود که پروتکل تمرین تداومی به این صورت انجام شد که در هفته آغازین با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه، زمان ۵ دقیقه شروع و هر هفته به سرعت، ۲-۱ متر بر دقیقه و به زمان نیز ۲-۱ دقیقه افزوده شد به طوری که در هفته چهارم

سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان به ۱۰ دقیقه رسید. تعداد جلسات ۵ جلسه در هفته بود. برنامه تمرین تناوبی شامل ۸ هفته، ۳ جلسه در هفته و هر جلسه ۱۰ ست فعالیت ۱ دقیقه‌ای با شدت ۵۰٪ و ۲ دقیقه استراحت بین ست‌ها است که ابتدا با ۱۴ متر در دقیقه در هفته شروع و هر هفته ۲ متر در دقیقه به سرعت افزوده شد تا در هفته هشتم به شدت ۲۸ متر در دقیقه رسید (۱۶، ۱۷). جهت بررسی اثرات محافظتی کوئرتستین با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن (۲۰) حل شده در کربوکسی متیل سلولز داده شد. دوزهای انتخاب شده بر اساس گزارشات مطالعات فارماکولوژیک قلبی در زمینه این دو مکمل انتخاب شده است. این روند به مدت ۸ هفته انجام شد. پس از اتمام دوره تحقیق، تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه باتیوپنتال سدیم به میزان ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن کشته شدند.

مطالعه بافت‌شناسی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین به این صورت بود: قطعات رنگ‌آمیزی شده کولون که در فرمالین ۱۰٪ فیکس کرده و جهت انجام برش در بلوک‌های پارافین، قالب‌گیری شد. از لحاظ میزان غیرطبیعی بودن بافت درجه‌بندی شدند که این غیرطبیعی بودن با سه پارامتر زیر به عنوان خصوصیات و ویژگی‌های دیسپلازی کولونی امتیازدهی شدند.

ناهنجاری‌های ساختاری با (۰: ساختار حفظ شده، ۱: به هم-ریختگی متوسط، ۲: به هم‌ریختگی شدید)، کاهش سلول‌های گابلت با (۰: محتوی گابلت طبیعی، ۱: فقدان متوسط سلول‌های گابلت، ۲: فقدان شدید سلول‌های گابلت)، عدم پولاریته هسته‌ای با (۰: پولاریته متوسط هسته‌ای، ۱: پولاریته متوسط هسته، ۲: پولاریته کامل به هم‌ریخته) امتیازدهی شد. معمولاً سرطان‌های کولون حداکثر امتیاز ۶ را می‌گیرند و کریپت‌های نرمال کولون امتیاز صفر را کسب نمودند.

در ادامه نمونه‌های قلبی جدا و در داخل فسفات بافر سالین (pH= 7.0) در دمای ۴ درجه سانتیگراد هموژنیزه شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ rpm با دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شدند. نهایتاً نمونه‌های حاصله سریعاً در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد ذخیره شده تا برای بررسی‌های بعدی جهت اندازه‌گیری بیومارکرهای استرس اکسیداتیو و التهاب مورد مطالعه قرار گیرند. میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT و MDA توسط کیت‌های اختصاصی و بر اساس پروتکل ارائه شده توسط شرکت خریداری شده، اندازه‌گیری گردید.

توصیف کمی داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد

<sup>1</sup> Azoxymethane

<sup>2</sup> Dextran Sulfate Sodium

انجام شد. برای بررسی تغییرات معنی‌داری هر یک از متغیرها از روش آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد.

### نتایج

در مقاطع بافتی که به روش رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین-ائوزین تهیه شده (جدول ۱) سلول‌های دیسپلاستیک مشاهده گردیدند که نشانگر تأثیر سرطان‌زایی ماده آزوکسی متان می‌باشد (شکل ۱).

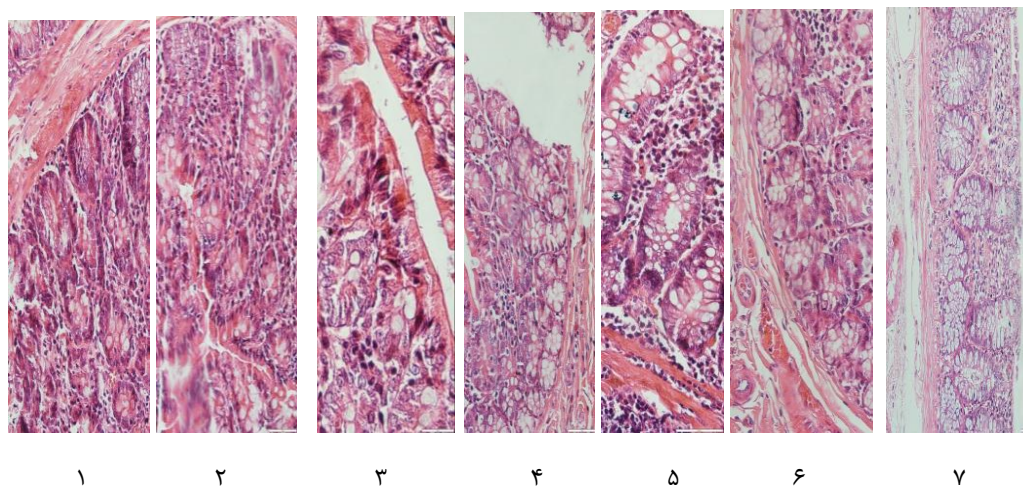
مقایسه غلظت MDA بافت قلبی در بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان داده‌است ( $p < 0/001$ ). سطح MDA در بافت قلبی موش‌های دچار سرطان در گروه بیمار  $6/06 \pm$  (۵۸/۹۲ نانومول در هر گرم) و سالین ( $5/23 \pm 59/17$  نانومول در هر گرم) به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بوده است ( $p < 0/001$ ). تجویز مکمل کوئرتستین، به‌ویژه همراه با تمرین ورزشی سبب کاهش معنی‌داری در میانگین غلظت MDA در بافت قلبی موش‌ها در مقایسه با گروه‌های بیمار و سالین گردید ( $p < 0/001$ ) (شکل ۱). اگرچه اختلاف معنی‌داری در میانگین غلظت MDA بین گروه‌های دریافت‌کننده مکمل کوئرتستین،

تمرین ورزشی و مکمل کوئرتستین به همراه تمرین مشاهده نگردید، اما مصرف همزمان مکمل کوئرتستین و تمرین ورزشی تا حدودی سبب کاهش بیشتری در غلظت MDA شده‌است (شکل ۲). میانگین سطح آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در بافت قلبی گروه‌های بیمار (به ترتیب برابر با  $12/04 \pm 117/52$  واحد در هر میلی‌گرم پروتئین و  $5/39 \pm 16/35$  واحد در هر میلی‌گرم پروتئین) و سالین (به ترتیب برابر با  $14/29 \pm 114/11$  واحد در هر میلی‌گرم پروتئین و  $4/93 \pm 16/35$  واحد در هر میلی‌گرم پروتئین) در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری کمتر بوده‌است ( $p < 0/001$ ). تجویز کوئرتستین به تنهایی یا به‌ویژه همراه با ورزش تناوبی یا تداومی سبب افزایش معنی‌داری در میانگین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (شکل ۳) و سوپراکسید دیسموتاز (شکل ۴) در بافت قلبی موش‌ها در مقایسه با گروه‌های بیمار و سالین گردید ( $p < 0/001$ ). اختلاف معنی‌داری در میانگین فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD بین گروه‌های دریافت‌کننده مکمل کوئرتستین، تمرین ورزشی و مکمل کوئرتستین همراه با تمرین مشاهده نگردید، هر چند مصرف همزمان مکمل کوئرتستین و تمرین ورزشی تا حدودی سبب افزایش بیشتری در فعالیت این آنزیم‌ها گردیده‌است.

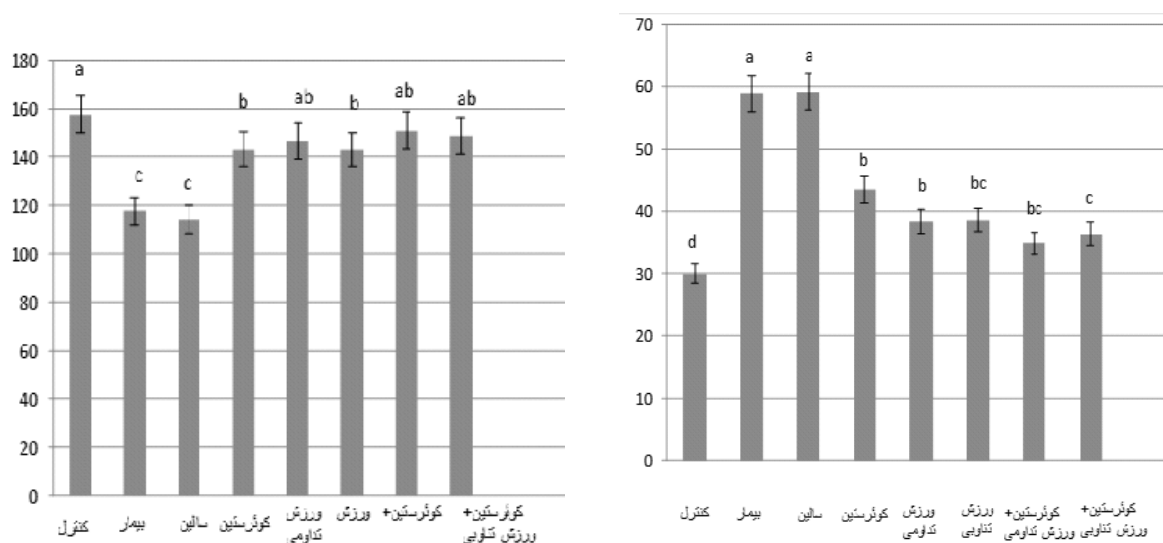
جدول ۱: شاخص‌های هیستوپاتولوژی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین

| شاخص                 | گروه           | تحت درمان      | سالین           | کوئرتستین       | تمرین تداومی    | تمرین تناوبی    | کوئرتستین-تمرین تداومی | کوئرتستین-تمرین تناوبی |
|----------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------|------------------------|
| ناهنجاری‌های ساختاری | $1/5 \pm 0/52$ | $1/4 \pm 0/54$ | $1/07 \pm 0/46$ | $1/01 \pm 0/21$ | $1/41 \pm 0/19$ | $1/03 \pm 0/25$ | $1/09 \pm 0/36$        |                        |
| کاهش سلول‌های گابلت  | $1/7 \pm 0/49$ | $1/5 \pm 0/51$ | $1/06 \pm 0/46$ | $1/35 \pm 0/23$ | $1/11 \pm 0/29$ | $1/08 \pm 0/56$ | $1/16 \pm 0/53$        |                        |
| عدم پولاریته هسته‌ای | $1/4 \pm 0/53$ | $1/1 \pm 0/56$ | $1/1 \pm 0/53$  | $1/39 \pm 0/11$ | $1/02 \pm 0/62$ | $1/2 \pm 0/41$  | $1/23 \pm 0/12$        |                        |

داده‌ها: میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد



شکل ۱. نمای بافت‌شناسی از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوژین: (۱) گروه تحت درمان، (۲) گروه دریافت‌کننده سالیسین، (۳) گروه دریافت‌کننده مکمل کوئرتستین، (۴) گروه تمرین تداومی، (۵) گروه تمرین تناوبی، (۶) گروه تمرین تداومی - کوئرتستین و (۷) گروه تمرین تناوبی - کوئرتستین



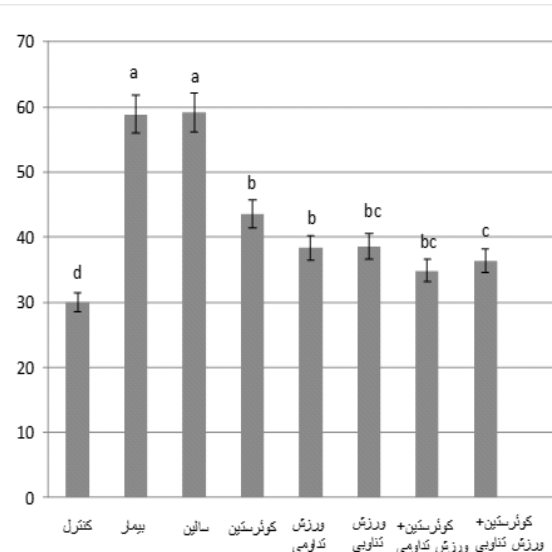
شکل ۳. مقایسه میانگین فعالیت CAT بین گروه‌های مختلف. حروف a تا c نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف می‌باشد. گروه a بزرگترین میانگین عددی، گروه c کوچکترین میانگین عددی، گروه ab حدواسط بین گروه a و b می‌باشد.

شکل ۲. مقایسه میانگین فعالیت MDA بین گروه‌های مختلف. حروف a تا d نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها مختلف می‌باشد. گروه a بزرگترین میانگین عددی، گروه d کوچکترین میانگین عددی، گروه bc حدواسط بین گروه b و c، گروه cd حدواسط بین گروه c و d می‌باشند.

غشاء میتوکندری منجر به آزادسازی سیگنال‌های آپوپتوز از جمله سیتوکروم C و تولید کنترل نشده ROS در طول زنجیره انتقال الکترون‌ها می‌گردد که نهایتاً با آسیب شدیدتر سلولی و آپوپتوز یا مرگ سلولی همراه می‌باشد (۱۹).

در مطالعه انجام‌شده توسط Schneider و همکاران (۲۰) بررسی اثر مصرف رسوراترول به میزان ۰/۱٪ به مدت ۷ هفته از طریق گاواژ، بر موش‌های APC<sup>min/+</sup> انجام گرفت و مشاهده شد که میزان تولید تومورهای روده کوچک و کولون در گروه دریافت‌کننده رسوراترول کاهش یافت. همچنین نشان داده شد که میزان Cyclin D<sub>1</sub> و Cyclin D<sub>2</sub> در گروه مطالعه کاهش یافت که اثر رسوراترول بر کاهش میزان ژن‌هایی که مستقیماً در تکثیر سلولی و چرخه سلولی نقش دارند، را مشخص نمود. در مطالعه انجام‌شده توسط Volate و همکاران (۲۱) با عنوان تنظیم کریپت‌های غیرنرمال و آپوپتوز از طریق مکمل-های گیاهی (کوئرتستین، کورکومین، سیلی مارین، جنسینگ و روتین)، بر روی رت‌های F344 که سرطان کلورکتال با آزوکسی متان القا شده بود، نشان داده شد که مصرف کوئرتستین به میزان ۱/۵٪ در رژیم غذایی رت‌ها باعث کاهش معنادار میزان کریپت‌های غیرنرمال در کولون رت گردید (۴ برابر کاهش) ولی چنین اثری برای روتین به تنهایی گزارش نگردید. همچنین نشان داده شد که مصرف مکمل حاوی تمام ترکیبات نام برده شده باعث کاهش ACF<sup>1</sup> به میزان ۲، ۱/۸، ۱/۵ و ۱/۲ برابر گردید. همچنین نشان داده شد که کوئرتستین قویتر از بقیه ترکیبات میزان ACF را کاهش داد و نسبت به بقیه باعث افزایش بیشتری در میزان آپوپتوز در این رت‌ها گردید (۳ برابر افزایش).

آنالیز کاسپاز ۹، Bax و Bcl-2 از طریق روش وسترن بلات، نشان داد که کوئرتستین از طریق میتوکندریایی باعث القای آپوپتوز می‌گردد. این اثر برای کورکومین نیز گزارش شد. این مطالعه نقش کوئرتستین و سایر ترکیبات گیاهی را در کاهش میزان ضایعات پیش سرطانی و القای آپوپتوز در روده بزرگ را پیشنهاد می‌کند. نتایج حاصل از این تحقیقات تا حدود زیادی مشابه یافته‌های تحقیق کنونی می‌باشد، با این تفاوت که در این تحقیق بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در بافت قلبی مورد بررسی قرار گرفته است.



**شکل ۴.** مقایسه میانگین فعالیت SOD بین گروه‌های مختلف. حروف a تا c نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف می‌باشد. گروه a بزرگترین میانگین عددی، گروه c کوچکترین میانگین عددی، گروه ab حدواسط بین گروه b و a می‌باشند.

### بحث

در این مطالعه، تأثیر تجویز کوئرتستین به تنهایی و یا همراه با تمرین ورزشی تناوبی و تداومی بر روی تغییرات بیومارکرهای استرس اکسیداتیو بافت قلبی در موش‌های دچار سرطان مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعه حاضر نشان داد که غلظت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی SOD و CAT در بافت قلبی موش‌های مبتلا به سرطان به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته، در حالی که میانگین غلظت MDA به طور چشمگیری افزایش یافته بود. نتایج حاصل از تحقیق ما دال بر این می‌باشد که افزایش استرس اکسیداتیو و همچنین کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها احتمالاً یکی از مکانیسم‌های اثر سرطان بر روی بافت قلبی است که می‌تواند احتمالاً با آپوپتوز یا مرگ سلول‌های قلبی همراه باشد. اگرچه مکانیسم دقیق این فرآیند به خوبی شناخته نشده، اما احتمالاً افزایش سطح رادیکال‌های آزاد که در شرایط سرطان اتفاق می‌افتد، منجر به آسیب اندامک‌های داخل سلولی از جمله غشاء میتوکندری می‌گردد که منجر به فعال‌سازی مسیر آپوپتوز می‌گردد (۱۸). از آنجایی که میتوکندری به‌عنوان کارخانه تولید انرژی و نیز مقادیر کنترل شده رادیکال‌های آزاد داخل سلولی محسوب می‌گردد، آسیب

<sup>1</sup> Aberrant Crypt Foci

گزارش گردید. مطالعات زیادی گزارش کردند که رسوراترول از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی بالای خود سبب محافظت سلول‌ها می‌گردد (۲۵). در یک مطالعه‌ای اخیرا Elbe و همکاران نشان دادند که رسوراترول از طریق کاهش سطح MDA و فعالیت آنزیم iNOS و از طرفی با افزایش محتوای SOD، CAT و GSH در بافت کبد، سبب کاهش هیپاتوتوکسیسته ناشی از استافینوفن می‌گردد (۲۶).

چندین مطالعه تاکنون تأثیر درمانی ترکیب آنتی‌اکسیدان‌ها و انواعی از ورزش‌ها را نیز بر روی بهبود عملکرد بافت‌های مختلف در بیماران مورد بررسی قرار دادند. برای مثال، در یک مطالعه کارآزمایی بالینی، فقیه‌زاده و همکاران نشان دادند که تجویز رسوراترول (۵۰۰ میلی‌گرم در هر روز برای ۱۲ هفته) همراه با فعالیت بدنی با کاهش معنی‌داری در سطح آنزیم کبدی آلانین ترانسفراز (ALT)، سایتوکاین‌های التهابی، فعالیت فاکتور هسته‌ای kappaB، سطح سرمی سایتوکاین-۱۸، و کاهش سیروز کبدی می‌گردد (۲۷). در مطالعه دیگری Jeong و همکاران نشان دادند که تمرین ورزشی متوسط و ملایم سبب مهار تراوش ماکروفاژها می‌گردد؛ در حالی که تجویز رسوراترول به تنهایی در جهت کاهش تراوش و فعال‌سازی ماکروفاژها کافی نمی‌باشد (۲۸).

در تحقیق کنونی ما، تمرین ورزشی تناوبی و تداومی به تنهایی و یا در ترکیب با مکمل کوئرتستین سبب بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت قلبی موش‌های دچار سرطان شدند که دال بر نقش مثبت این تمرینات ورزشی در بهبود عملکرد قلبی می‌باشد. هرچند تفاوتی بین دو گروه ورزشی تناوبی و تداومی مشاهده نگردید. اگرچه مکانیسم واقعی تأثیر مثبت ورزش بر روی کاهش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب هنوز به خوبی روشن نشده‌است، اما به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های اثر ورزش‌های تناوبی و تداومی بر روی بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب از طریق تغییر در بیان برخی از ژن‌ها از جمله افزایش ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی باشد (۱۰). بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و پژوهش‌های قبلی، درمان ترکیبی با کوئرتستین و تمرین ورزشی احتمالا از طریق کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال‌های آزاد، بهبود آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش التهاب می‌تواند سبب کاهش اثرات ناشی از بیماری سرطان بر روی سایر ارگان‌ها به‌ویژه بافت قلبی گردد.

بنابراین، نتایج حاصل از پژوهش کنونی دال بر این می‌باشد که استرس اکسیداتیو القا شده با ROS و التهاب در بافت قلب به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های اثر بیماری سرطان محسوب می‌گردد که می‌تواند نهایتا منجر به آپوپتوز و مرگ سلول‌ها شود. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، به نظر می‌رسد که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها یا داروهایی که سبب محافظت سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو می‌شوند، کمک زیادی به بهبود وضعیت اکسیداتیوی و التهاب در بافت قلبی بیماران سرطانی داشته باشند. به همین منظور در این تحقیق، اثرات درمانی کوئرتستین به تنهایی و یا همراه با ورزش‌های تناوبی و تداومی در کاهش وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب بافت قلبی در بیماری سرطان مورد بررسی قرار گرفته‌است. نتایج تحقیق ما نشان داد که آسیب قلبی در موش‌های دریافت‌کننده کوئرتستین به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه بیمار کاهش یافته بود. این اثرات با کاهش معنی‌داری در سطح بیومارکر پراکسیداتیوی MDA و همچنین افزایش چشمگیری در سطح آنزیم‌های SOD و CAT همراه بوده‌است. اگرچه تجویز کوئرتستین و یا هر یک تمرین‌های ورزشی به تنهایی سبب بهبود در وضعیت اکسیداتیوی و التهابی سلول‌های بافت قلبی گردید، اما تجویز ترکیبی کوئرتستین همراه با ورزش تناوبی یا تداومی تأثیر درمانی قویتری نشان داده‌بود. تاکنون مطالعات متعددی تأثیر درمانی آنتی‌اکسیدان‌ها را بررسی کردند. برای مثال در یک مطالعه قبلی، تأثیر تجویز رسوراترول به تنهایی و یا همراه با تمرین‌های ورزشی بر روی تعداد سلول‌های آپوپتوز شده کبدی و همچنین مارکرهای استرس اکسیداتیو و التهابی مورد بررسی قرار گرفت (۱۰). نتایج تحقیقی نشان داد که تجویز رسوراترول، به‌ویژه به‌صورت ترکیبی با ورزش‌های تناوبی و تداومی، با افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT و سطح IL-10 در بافت کبدی همراه است؛ در حالی که سطح TNF- $\alpha$ ، میزان پراکسیداسیون لیپیدی و تعداد سلول‌های آپوپتوز کبدی به طور معنی‌داری کاهش یافته‌بود (۱۰). افزایش بیان سایتوکاین‌های ضد التهابی نظیر IL-4 نیز توسط چندین مطالعه قبلی گزارش گردید (۲۲). اثر محافظتی رسوراترول علیه سایر مدياتورهای التهاب نظیر IL-6، IL-1، IL- $\beta$ ، IL- $\gamma$ ، IL-5، IL-33 (۲۳)، نیتریک اکسید (NO)، نیتریک اکسید سنتاز القاءپذیر (iNOS)، سیکلو اکسیژناز-۲ (COX-2) و ماتریکس متالو پروتینازها (MMPs) (۲۴) نیز در مطالعات قبلی

## نتیجه گیری

نتایج حاصل از تحقیق ما نشان می‌دهد که بیماری سرطان با افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در بافت قلبی همراه می‌باشد. اگرچه تجویز کوئرستین می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا در جهت کاهش استرس اکسیداتیو در بافت قلبی بیماران سرطانی مورد استفاده قرار گیرد؛ اما درمان ترکیبی کوئرستین و تمرین ورزشی تناوبی یا تداومی، می‌تواند سبب تعادل بیشتر در وضعیت اکسیداتیوی بافت قلبی در سرطان گردد.

## تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل یک طرح تحقیقاتی است که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمان با شماره طرح ۹۷۰۰۰۷۰۳ به ثبت رسیده‌است. مطالعه توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کرمان به شماره کد IR.KMU.REC.1398.035 تأیید گردید.

## تعارض منافع

نویسندگان این مطالعه هیچ‌گونه تعارض منافی نداشتند.

## References

1. Nunez-Sanchez MA, Gonzalez-Sarrias A, Romo-Vaquero M, Garcia-Villalba R, Selma MV, Tomas-Barberan FA, et al. Dietary phenolics against colorectal cancer—From promising preclinical results to poor translation into clinical trials: Pitfalls and future needs. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2015;59(7):1274-91.
2. Thrift AP. The epidemic of oesophageal carcinoma: Where are we now? *Cancer Epidemiology*. 2016;41:88-95.
3. Cai H, Scott E, Kholghi A, Andreadi C, Rufini A, Karmokar A, et al. Cancer chemoprevention: Evidence of a nonlinear dose response for the protective effects of resveratrol in humans and mice. *Science Translational Medicine*. 2015;7(298):298.
4. Boughey JC, Hartmann LC, Anderson SS, Degen AC, Vierkant RA, Reynolds CA, et al. Evaluation of the Tyrer-Cuzick (International breast cancer intervention study) model for breast cancer risk prediction in women with atypical hyperplasia. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(22):3591-6.
5. Alizadeh AM, Khaniki M, Azizian S, Mohaghheghi MA, Sadeghizadeh M, Najafi F. Chemoprevention of azoxymethane-initiated colon cancer in rat by using a novel polymeric nanocarrier—curcumin. *European Journal of Pharmacology*. 2012;689(1):226-32.
6. Siddiqui IA, Adhami VM, Ahmad N, Mukhtar H. Nanochemoprevention: sustained release of bioactive food components for cancer prevention. *Nutrition Cancer*. 2010;62(7):883-90.
7. Shukla Y, Singh R. Resveratrol and cellular mechanisms of cancer prevention. *Annals of the*

8. Inoue H, Kishimoto A, Ushikoshi-Nakayama R, Hasaka A, Takahashi A, Ryo K, et al. Resveratrol improves salivary dysfunction in a non-obese diabetic (NOD) mouse model of Sjogren's syndrome. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2016;59(2):107-12.
9. Park HG, Lee YR, Jun JK, Lee WL. Exercise training is more effective than resveratrol supplementation on alleviation of inflammation in peritoneal macrophages of high fat diet mice. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*. 2014;18(1):79-87.
10. Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Archives of Physiology and Biochemistry* 2019; 125 (2):142-9.
11. Moon YJ, Wang X, Morris ME. Dietary flavonoids: effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. *Toxicology in Vitro*. 2006;20(2):187-210.
12. van der Woude H, ter Veld MG, Jacobs N, van der Saag PT, Murk AJ, Rietjens IM. The stimulation of cell proliferation by quercetin is mediated by the estrogen receptor. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2005;49(8):763-71.
13. Granado-Serrano AB, Martín MA, Bravo L, Goya L, Ramos S. Quercetin induces apoptosis via caspase activation, regulation of Bcl-2, and inhibition of PI-3-kinase/Akt and ERK pathways in a human hepatoma cell line (HepG2). *The Journal of Nutrition*. 2006;136(11):2715-21.
14. Cho SY, Park SJ, Kwon MJ, Jeong TS, Bok SH, Choi WY, et al. Quercetin suppresses



- proinflammatory cytokines production through MAP kinases and NF- $\kappa$ B pathway in lipopolysaccharide-stimulated macrophage. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2003;243(1-2):153-60.
15. Guo R, Liang E, So K, Fung M, Tipoe G. Beneficial mechanisms of aerobic exercise on hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary and Pancreatic Diseases International*. 2015;14:139-44.
16. Batacan RB Jr., Duncan MJ, Dalbo VJ, Connolly KJ, Fenning AS. Light-intensity and high-intensity interval training improve cardiometabolic health in rats. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. 2016;41(9):945-52.
17. Freitas DA, Rocha-Vieira E, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, et al. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. *Physiology & Behavior*. 2017;184:6-11.
18. Gonzalez-Rodriguez A, Mayoral R, Agra N, Valdecantos MP, Pardo V, Miquilena-Colina ME, et al. Impaired autophagic flux is associated with increased endoplasmic reticulum stress during the development of NAFLD. *Cell Death & Disease*. 2014;5:e1179.
19. Thong-Ngam D, Samuhasaneeto S, Kulaputana O, Klaikeaw N. N-acetylcysteine attenuates oxidative stress and liver pathology in rats with non-alcoholic steatohepatitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2007;13(38):5127-32.
20. Schneider Y, Duranton B, Goss F, Schleiffer R, Seiler N, Raul F. Resveratrol inhibits intestinal tumorigenesis and modulates host-defense-related gene expression in an animal model of human familial adenomatous polyposis. *Nutrition and Cancer*. 2001;39(1):102-7.
21. Volate SR, Davenport DM, Muga SJ, Wargovich MJ. Modulation of aberrant crypt foci and apoptosis by dietary herbal supplements (quercetin, curcumin, silymarin, ginseng and rutin). *Carcinogenesis*. 2005;26(8):1450-6.
22. Wang D, Li SP, Fu JS, Bai L, Guo L. Resveratrol augments therapeutic efficiency of mouse bone marrow mesenchymal stem cell-based therapy in experimental autoimmune encephalomyelitis. *International journal of Developmental Neuroscience*. 2016;49:60-6.
23. Chen Q, Wang T, Li J, Wang S, Qiu F, Yu H, et al. Effects of natural products on fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Nutrients*. 2017;9(2).
24. Wang ZM, Chen YC, Wang DP. Resveratrol, a natural antioxidant, protects monosodium iodoacetate-induced osteoarthritic pain in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;83:763-70.
25. Sun S, Zhang M, Yang Q, Shen Z, Chen J, Yu B, et al. Resveratrol suppresses lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> expression by reducing oxidative stress in macrophages and animal models. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2017;61(10).
26. Elbe H, Gul M, Cetin A, Taslidere E, Ozyalin F, Turkoz Y, et al. Resveratrol reduces light and electron microscopic changes in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats: Role of iNOS expression. *Ultrastructural Pathology*. 2017:1-10.
27. Faghihzadeh F, Adibi P, Rafiei R, Hekmatdoost A. Resveratrol supplementation improves inflammatory biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Nutrition Research*. 2014;34(10):837-43.
28. Jeong JH, Lee YR, Park HG, Lee WL. The effects of either resveratrol or exercise on macrophage infiltration and switching from M1 to M2 in high fat diet mice. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*. 2015;19(2):65-72.

## Simultaneous effect of quercetin and exercises on oxidative stress induced by colon cancer in the heart tissue of rats

Received: 1 Jan 2020

Accepted: 2 Jun 2020

Sajjad Tezerji<sup>1</sup>, Parvin Ekhlaspour<sup>2</sup>, Fatemeh Nazari Robati<sup>3</sup>, Behrooz Talaei<sup>1\*</sup>

1. Student Reserch Committee, School of Medicine, Kerman University of Medical Science, Kerman, Iran  
2. MSc Student in Nutrition, Department of Nutrition, Faculty of Nutrition and Food Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran 3. MPH Candidate, Social Diameters of Health Research Center, Kerman Urban Health Center, Kerman, Iran

### Abstract

**Introduction:** Colon cancer is the fourth cause of mortality at the world and second common cancer in the Europe. About 8% of all cancer deaths are due to colon cancer. This condition is caused by abnormal growth of cells which can invade or multiply in other tissues of the body (metastasis). The present study was designed to investigate the Simultaneous effect of quercetin and exercises on oxidative stress induced by colon cancer In the heart tissue in animal models.

**Materials and Methods:** In this experimental study a total of 80 rats were divided into two groups, including control (n=10) and treated group (n=70). Cancer in rats is induced by subcutaneous injection of azoxy methane and then the cancer rats were randomly divided into seven experimental groups including, patient, saline, quercetin, continuous exercise, interval exercise, continuous exercise with quercetin, and interval exercise with quercetin. Oxidative stress including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) were measured in the heart tissue using specific ELISA kits. Data were analyzed using ANOVA program by SPSS software.

**Results:** Quercetin supplementation alone or in combination with exercise trainings significantly increased the mean of cardiac CAT and SOD activity compared to the treated group and saline groups ( $p < 0.001$ ), while MDA level was significantly decreased ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** Colon cancer increases the oxidative stress of heart cells. Although quercetin alone has an anti-oxidative properties, combined therapy with interval and continuous training can be probably more effective.

**Keywords:** Oxidative stress, Colon Cancer, Interval and Continuous Trainings, Quercetin

\*Corresponding Author: Member of the Student Reserch Committee, School of Medicine, Kerman University of Medical Science, Kerman, Iran

Email: b.talaei@kmu.ac.ir

Tel: +989125581202

Fax: +983431325822