

اثر توأم کوئرستین 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 طزر جی^۱، پروین اخلاص پور^۲، فاطمه نظری رباطی^۳، بهروز طلایبی^{۱*}

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 می‌توانند به بافت‌های دیگر بدن حمله کنند یا در آنها تکثیر یابند. مطالعه حاضر جهت بررسی اثر توأم کوئرستین 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 موسی صحرایی نر به دو گروه تحت درمان (n=۷۰) و کنترل (n=۱۰) تقسیم شدند. سرطان در حیوانات، از طریق تزریق زیرجلدی آزوکسی متان القاء و سپس به ۷ زیر گروه تجربی تحت درمان، سالین، کوئرستین، ورزش تناوبی، ورزش تداومی، کوئرستین به همراه ورزش تناوبی و کوئرستین به همراه ورزش تداومی تقسیم شدند. بیومارکرهای استرس اکسیداتیو شامل آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، مالون دی‌آلدید (MDA) در بافت قلبی موسی‌ها 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 کوئرستین به تنها ی و یا همراه با تمرین ورزشی سبب افزایش معنی‌داری در میانگین آنزیم‌های CAT و SOD در بافت قلبی موسی‌ها در مقایسه با گروه‌های تحت درمان و سالین گردید ($p < 0.01$)، در حالی که سطح MDA کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: سرطان کولون سبب افزایش استرس اکسیداتیو سلول‌های قلبی می‌گردد. اگرچه کوئرستین به تنها ی 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، کوئرستین

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

تلفن: ۰۹۱۲۵۵۸۱۲۰۲
نامبر: ۰۳۴۳۱۳۲۵۸۲۲

ایمیل: b.talaei@kmu.ac.ir

مقدمه

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

پلی فنول‌ها از متابولیت‌های ثانویه گیاهی و محافظت کننده از گیاه در برابر پرتو مواده بدن، اکسیدان‌ها و پاتوژن‌ها هستند. فلاونوئیدها فراوانترین پلی فنول رزیم غذایی انسان می‌باشند. کوئرستین با ساختار ۳، ۵، ۷، ۴-۳-پنتا هیدروکسی فلالون یکی از مهم‌ترین آنها در گروه فلاونوئیدهاست (۵، ۷). از جمله اثرات شناخته شده کوئرستین 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 پلاسمما و اثرات ضد سرطانی اشاره نمود (۵، ۱۱-۱۳).

از مکانیزم‌های مولکولی پیشنهاد شده ضدسرطانی کوئرستین می‌توان به اثر مستقیم کوئرستین بر کاهش فعالیت Cyp1A7 در سرطان کولون (در فعال‌سازی کارسینوژن‌ها نقش دارد) (۱۱)، اثر بر شکست DNA، شکسته شدن PARP² و افزایش Bax و اثر بر میزان Bcl-2 (ضدآپوپتوزیس) (۱۳)، کاهش سنتر سایتوکاین‌های التهابی و بیان iNOS³ (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، به نظر می‌رسد که مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها توأم با فعالیت ورزشی منظم با بهبود این وضعیت کمک زیادی در درمان و کاهش شدت اثرات آن داشته باشد (۱۵). با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بالای کوئرستین، مصرف این ترکیب توأم با فعالیت‌های ورزشی در جهت بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت قلبی بیماران مبتلا به سرطان انجام نشده است. به همین منظور، هدف از این پژوهش، بررسی اثر یک دوره فعالیت ورزشی منظم به همراه مصرف مکمل کوئرستین بر روی مارکرهای استرس اکسیداتیو شامل آنزیم‌های SOD و CAT و مالون دی آلدئید (MDA) در بافت قلبی موش‌های مبتلا به سرطان کولون می‌باشد.

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 می‌توانند 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 داشته است (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، باستی استفاده هدفمند از مواد پیشگیری کننده از سرطان با مکانیزم شیمیایی^۱ 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 به عنوان ماده پیشگیری کننده از سرطان با مکانیزم شیمیایی تعریف کردند. هدف اصلی پیشگیری از سرطان با مکانیزم شیمیایی شناسایی اجزای طبیعی گیاهان خوارکی می‌باشد که از طریق مداخله با مسیرهای درون سلولی سلول‌های سرطانی، از رشد یا متاستاز سلول جلوگیری نماید (۵). مکانیزم اصلی که بیان کننده عملکرد پیشگیری کننده از سرطان با مکانیزم شیمیایی اجزای طبیعی گیاهان خوارکی هستند، شامل تعديل در بیان زن‌های تنظیم کننده تکثیر سلول، تعديل در تمایز، تعديل در آپوپتوز و توقف آنزیوژن‌زیس و متاستازیس 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 نموده اند (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-

² Poly (ADP-ribose) Polymerase

³ Inducible Nitric Oxide Synthase

¹ Cancer Chemoprevention

روش کار

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 $\%5.0$ 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 کوئرستین با دوز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن (۲۰) حل شده در کربوکسی متیل سلولز داده شد. دوزهای انتخاب شده بر اساس گزارشات مطالعات فارماکولوژیک قبلی در زمینه این دو مکمل انتخاب شده‌است. این روند به مدت ۸ هفته انجام شد. پس از اتمام دوره تحقیق، تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه با تیپتال سدیم به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن کشته شدند.

مطالعه بافت‌شناسی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین 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 (۰:۰: ساختار حفظ شده، ۱: بهم-ریختگی متوسط، ۲: بهم‌ریختگی شدید)، کاهش سلول‌های گابلت با (۰: محتوى 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 بهم‌ریخته) امتیازدهی شد. معمولاً سرطان‌های کولون حداقل 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 rpm ۱۲۰۰۰ با دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند. نهایتاً نمونه‌های حاصله سریعاً در دمای ۸-۱۰ درجه سانتیگراد ذخیره شده تا برای بررسی‌های بعدی جهت اندازه‌گیری بیومارکرهای استرس اکسیداتیو و التهاب مورد مطالعه قرار گیرند. میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و MDA و CAT توسط کیت‌های اختصاصی و بر اساس پروتکل ارائه شده توسط شرکت خریداری شده، اندازه‌گیری گردید.

توضیف کمی داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد

در این مطالعه تجربی، تعداد ۸۰ سرمش مصححای نر نژاد اسپر اگ دالی (با سن ۴ تا ۵ هفته) با میانگین وزنی ۲۰۰-۲۲۰ گرم در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انتخاب وارد تحقیق شدند. حجم نمونه بر اساس مطالعات قبلی انتخاب گردید. موش‌های مورد مطالعه در یک شرایط آب و هوایی کنترل شده (دمای 2 ± 2 درجه سانتیگراد، رطوبت $5\pm 5\%$ ، 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، ۵.۵۵٪ 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 ۱-۷، به صورت هفتگی، داروی شیمیایی آزوکسی متان (AOM) با دوز ۱۵ میلی‌گرم/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 کارسینوژنیزیس کولون دکستران سولفات سدیم 2% (DSS^۲) 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 کوئرستین، (۴) گروه تمرین تداومی، (۵) گروه تمرین تناوبی، (۶) گروه تمرین تداومی-کوئرستین و (۷) گروه تمرین تناوبی-کوئرستین تقسیم شدند.

قبل از شروع تمرین اصلی ورزشی، موش‌ها در گروه تمرین و گروه مکمل+تمرین به منظور آشنازی با چگونگی فعالیت روی تردمیل، در یک هفته طی ۵ جلسه، به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه با شبیه 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 ۱-۲ متر بر دقیقه و به زمان نیز ۱-۲ دقیقه افزوده شد به طوری که در هفته چهارم

¹ Azoxymethane

² Dextran Sulfate Sodium

تمرین ورزشی و مکمل کوئرستین به همراه تمرین مشاهده نگردید، اما مصرف همزمان مکمل کوئرستین و تمرین ورزشی تا حدودی سبب کاهش بیشتری در غلظت MDA شده است (شکل ۲). میانگین سطح آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در بافت قلبی گروه‌های بیمار (به ترتیب برابر با $\pm 12/04$ واحد در هر میلی‌گرم پروتئین و $\pm 5/39$ واحد در هر میلی‌گرم پروتئین) و سالین (به ترتیب برابر با $\pm 14/29$ واحد در هر میلی‌گرم پروتئین و $\pm 4/93$ واحد در هر میلی‌گرم پروتئین) در مقایسه با سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری کمتر بوده است ($p<0.001$). تجویز کوئرستین به تنها 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 کوئرستین، تمرین ورزشی و مکمل کوئرستین همراه با تمرین مشاهده نگردید، هر چند مصرف همزمان مکمل کوئرستین و تمرین ورزشی تا حدودی سبب افزایش بیشتری در فعالیت این آنزیم‌ها گردیده است.

انجام شد. برای بررسی تغییرات معنی‌داری هر یک از متغیرها از روش آنالیز واریانس یکطره 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

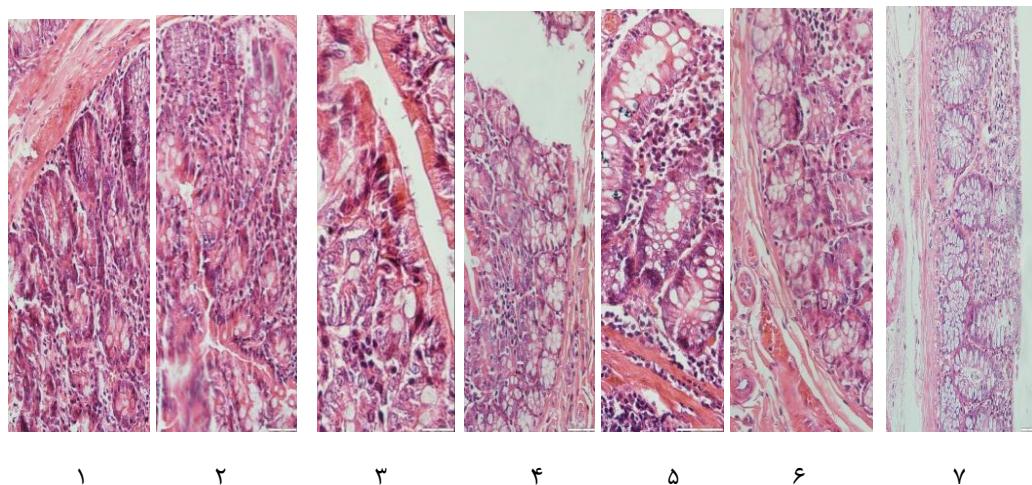
در مقاطع بافتی که به روش رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین-ائوزین تهیه شده (جدول ۱) سلول‌های دیسپلاستیک مشاهده گردیدند که نشانگر تأثیر سرطان‌زا بی ماده آزوکسی متان می‌باشد (شکل ۱).

مقایسه غلظت MDA بافت قلبی در بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان داده است ($p<0.001$). سطح MDA در بافت قلبی موش‌های چهار سرطان در گروه بیمار ($\pm 6/06$ نانومول $58/92$ در هر گرم) و سالین ($\pm 5/23$ نانومول در هر گرم) به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بوده است در هر گرم). تجویز مکمل کوئرستین، 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 کوئرستین،

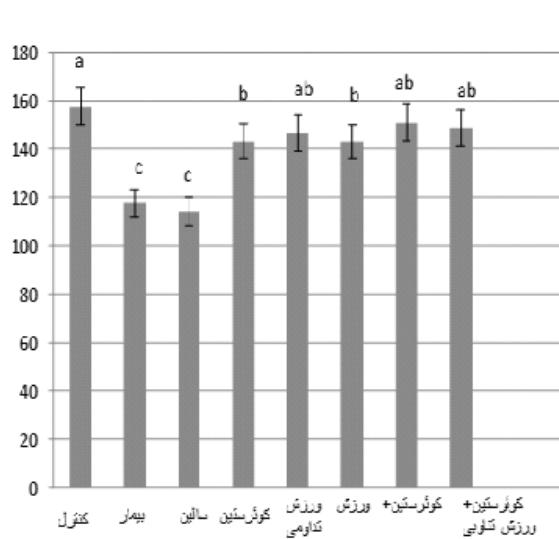
جدول ۱: شاخص‌های هیستوپاتولوژی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین

شاخص	گروه	تحت درمان	سالین	تمرين	تمرين تناوبی	تمرين تداوی	کوئرستین	کوئرستین- تمرين	کوئرستین- تداوی
ناهنجاری‌های ساختاری		$1/5 \pm 0/52$	$1/4 \pm 0/54$	$1/07 \pm 0/46$	$1/41 \pm 0/21$	$1/01 \pm 0/21$	$1/03 \pm 0/25$	$1/09 \pm 0/36$	
کاهش سلول-های گابات		$1/7 \pm 0/49$	$1/5 \pm 0/51$	$1/06 \pm 0/46$	$1/11 \pm 0/29$	$1/35 \pm 0/23$	$1/08 \pm 0/56$	$1/16 \pm 0/53$	
عدم پولاریته هسته‌ای		$1/4 \pm 0/53$	$1/1 \pm 0/56$	$1/1 \pm 0/53$	$1/02 \pm 0/62$	$1/39 \pm 0/11$	$1/2 \pm 0/41$	$1/23 \pm 0/12$	

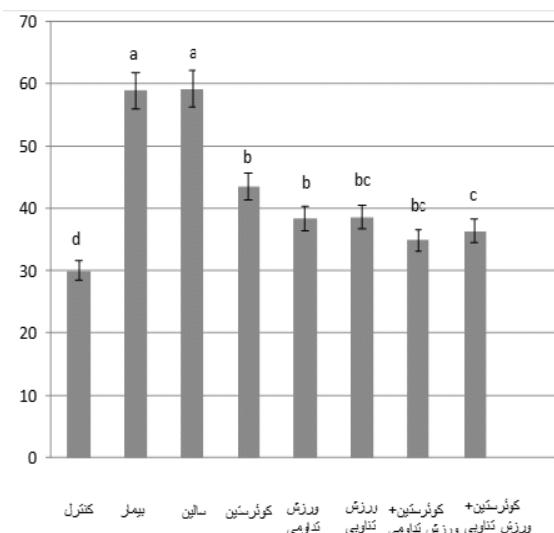
داده‌ها: میانگین \pm میانگین خطای استاندارد



شکل ۱. نمای بافت‌شناسی از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین: (۱) گروه تحت درمان، (۲) گروه دریافت‌کننده سالین، (۳) گروه دریافت‌کننده مکمل کوئرستین، (۴) گروه تمرین تداومی، (۵) گروه تمرین تداومی-کوئرستین و (۷) گروه تمرین تناوبی-کوئرستین



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 عدد، گروه ab حدوداً بین گروه b و c می‌باشد.



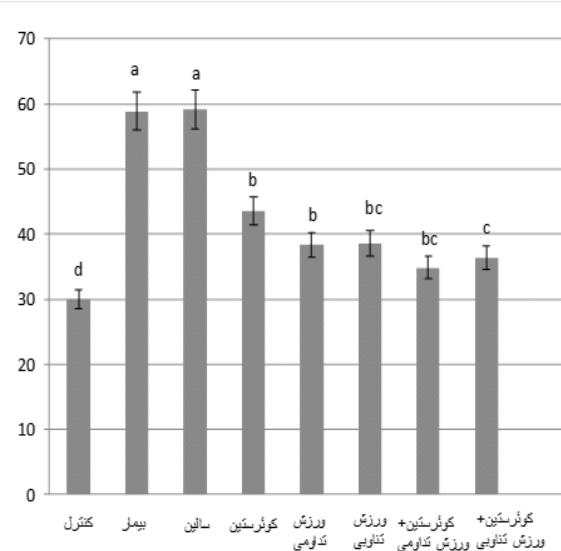
شکل ۲. مقایسه میانگین فعالیت MDA بین گروه‌های مختلف. حروف a تا d نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها مختلف می‌باشد. گروه a بزرگترین میانگین عددی، گروه d کوچکترین میانگین عدد، گروه bc حدوداً بین گروه b و c، گروه cd حدوداً بین گروه c و d می‌باشد.

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 انجام شده توسط Schnider و همکاران (۲۰) بررسی اثر مصرف رسوراترول به میزان 0.01% به مدت ۷ هفته از طریق گواژر، بر موش‌های APC^{min/+} 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 D₁ Cyclin D₂ در گروه مطالعه کاهش یافت که اثر رسوراترول بر کاهش میزان بیان ژن‌هایی که مستقیماً در تکثیر سلولی و چرخه سلولی نقش دارند، را مشخص نمود. در مطالعه انجام شده توسط Volate و همکاران (۲۱) با عنوان تنظیم کریبت‌های غیربرنرمال و آپوپتوز از طریق مکمل‌های گیاهی (کوئرستین، کورکومین، سیلی مارین، جنسینگ و روتین)، بر روی رت‌های F344 که سرطان کلورکتال با آذوکسی مтан القا شده بود، نشان داده شد که مصرف کوئرستین به میزان ۱/۵٪ در رژیم غذایی رتها باعث کاهش معنادار میزان کریبت‌های غیربرنرمال در کولون رت گردید (۴ برابر کاهش) ولی چنین اثری برای روتین به تنها یک گزارش نگردید. همچنین نشان داده شد که مصرف مکمل حاوی تمام ترکیبات نام برده شده باعث کاهش ACF¹ به میزان به ترتیب ۲، ۱/۸، ۱/۵ و ۱/۲ برابر گردید. همچنین نشان داده شد که کوئرستین 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 کوئرستین از طریق میتوکندریایی باعث القای آپوپتوز می‌گردد. این اثر برای کورکومین نیز گزارش شد. این مطالعه نقش کوئرستین و سایر ترکیبات گیاهی را در کاهش میزان خایات پیش سلطانی 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.

¹ Aberrant Crypt Foci



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 گروه میانگین عدد، گروه ab حدواتسط بین گروه b و a می‌باشند.

بحث

در این مطالعه، تأثیر تجویز کوئرستین به تنها یک 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 به عنوان کارخانه تولید انرژی و نیز مقادیر کنترل شده رادیکال‌های آزاد داخل سلولی محسوب می‌گردد، آسیب

گزارش گردید. مطالعات زیادی گزارش کردند که رسوراترول از طریق خواص آنتی اکسیدانی 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 هپاتوتوكسیته ناشی از استافیلوفن می‌گردد (۲۶).

چندین مطالعه تاکنون تأثیر درمانی ترکیب آنتی اکسیدان‌ها 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)، سایتوکالین‌های التهابی، فعالیت فاکتور هسته‌ای kappaB، سطح سرمی سایتوکالین-۱، و کاهش سیروز کبدی می‌گردد (۲۷). در مطالعه دیگری Jeong و همکاران نشان دادند که تمرين ورزشی متوسط و ملایم سبب مهار تراوش ماکروفازها می‌گردد؛ در حالی که تجویز رسوراترول به تنها یابی در جهت کاهش تراوش و فعال‌سازی ماکروفازها کافی نمی‌باشد (۲۸).

در تحقیق کنونی ما، تمرين ورزشی تنابوی و تداومی به تنها یابی و یا در ترکیب با مکمل کوئرستین سبب بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت قلبی موش‌های دچار سرطان شدند که دال بر نقش مثبت این تمرينات ورزشی در بهبود عملکرد قلبی می‌باشد. هرچند تفاوتی بین دو گروه ورزشی تنابوی و تداومی مشاهده نگردید. اگرچه مکانیسم واقعی تأثیر مثبت ورزش بر روی کاهش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب هنوز به خوبی روشن نشده است، اما بهنظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های اثر ورزش‌های تنابوی و تداومی بر روی بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب از طریق تغییر در بیان برخی از ژن‌ها از جمله افزایش ژن‌های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی باشد (۱۰). بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و پژوهش‌های قبلی، درمان ترکیبی با کوئرستین و تمرين ورزشی احتمالاً از طریق کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال‌های آزاد، بهبود آنتی اکسیدان‌ها 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 القاء شده با ROS و التهاب در بافت قلبی به عنوان یکی از مکانیسم‌های اثر بیماری سرطان محسوب می‌گردد که می‌تواند نهایتاً منجر به آپوپتوز و مرگ سلول‌ها شود. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، به نظر می‌رسد که استفاده از آنتی اکسیدان‌ها یا داروهایی که سبب محافظت سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو می‌شوند، کمک زیادی به بهبود وضعیت اکسیداتیو و التهاب در بافت قلبی بیماران سرطانی داشته باشند. به همین منظور در این تحقیق، اثرات درمانی کوئرستین به تنها یابی و یا همراه با ورزش‌های تنابوی و تداومی در کاهش وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب بافت قلبی در بیماری سرطان مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج تحقیق ما نشان داد که آسیب قلبی در موش‌های دریافت‌کننده کوئرستین 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 بوده است. اگرچه تجویز کوئرستین و یا هر یک تمرين‌های ورزشی به تنها یابی سبب بهبود در وضعیت اکسیداتیو و التهاب سلول‌های بافت قلبی گردید، اما تجویز ترکیبی کوئرستین همراه با ورزش تنابوی یا تداومی تأثیر درمانی قویتری نشان داده بود. تاکنون مطالعات متعددی تأثیر درمانی آنتی اکسیدان‌ها را بررسی کردند. برای مثال در یک مطالعه قبلی، تأثیر تجویز رسوراترول به تنها یابی و یا همراه با تمرين‌های 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 به صورت ترکیبی با ورزش‌های تنابوی 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-a، میزان پراکسیداسیون لیپیدی و تعداد سلول‌های آپوپتوز کبدی به طور معنی‌داری کاهش یافته بود (۱۰). افزایش بیان سایتوکالین‌های ضد التهابی نظیر IL-4 نیز توسط چندین مطالعه قبلی گزارش گردید (۲۲). اثر محافظتی رسوراترول علیه سایر مدیاتورهای التهاب نظیر INF-γ، IL-β، IL-1، IL-6، IL-33، IL-5، IL-33 (۲۳)، نیتریک اکسید (NO)، نیتریک اکسید سنتاز القاء‌پذیر (iNOS)، سیکلو اکسیژناتاز-۲ (COX-2) و ماتریکس متالو پروتئینازها (MMPs) (۲۴) نیز در مطالعات قبلی

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 ۹۷۰۰۷۰۳ به ثبت رسیده است. مطالعه توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کرمان به شماره کد IR.KMU.REC.1398.035 تأیید گردید.

تعارض منافع

نویسنده‌گان این مطالعه هیچ‌گونه تعارض منافعی نداشتند.

نتیجه‌گیری

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 به عنوان 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 تنابوی یا تداومی، می‌تواند سبب تعادل بیشتر در وضعیت اکسیداتیوی بافت قلبی در سرطان گردد.

References

1. Nunez-Sanchez MA, Gonzalez-Sarrias A, Romo-Vaquero M, García-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, Degnim 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, Mohaghghehi MA, Sadeghzadeh 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 New York Academy of Sciences*. 2011;1215(1):1-8.
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 Vitrology*. 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- κ 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, Samuhasaneet 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, Schleifer 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 A₂ 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. Faghizadeh 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 Tezerji¹, Parvin Ekhlaspour², Fatemeh Nazari Robati³, Behrooz Talaei^{1*}

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