

## تأثیر تمرین مقاومتی و نانوکورکومین بر نشانگرهای التهابی بافت تومور (IL-1 $\alpha$ و NF- $\kappa$ B) در موش‌های صحرایی مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۷

دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴

مهدی بی‌غم<sup>۱</sup>، فاطمه شب‌خیز<sup>۲\*</sup>، حسین شیروانی<sup>۳</sup>، موسی خلفی<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، واحد پردیس بین‌الملل ارس، دانشگاه تهران، تهران، ایران ۲. دانشیار گروه فیزیولوژی فعالیت ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران ۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران ۴. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

### چکیده

**مقدمه و هدف:** هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرین مقاومتی و مکمل نانوکورکومین بر مقادیر پروتئینی NF- $\kappa$ B و IL-1 $\alpha$  درگیر در متابولیسم تومور در موش‌های صحرایی مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم (GBM) می‌باشد.

**روش کار:** ۳۰ سر موش صحرایی نر ویستار به ۵ گروه کنترل سالم، GBM، GBM+تمرین مقاومتی (RT)، GBM+مکمل نانوکورکومین (NCUR) و GBM+RT+NCUR تقسیم شدند. GBM در قشر فرونتال موش‌ها تزریق شد. گروه تمرینی برای مدت ۴ هفته، ۳ روز در هفته، تمرینات مقاومتی فزاینده را انجام دادند. در پایان، موش‌ها قربانی شدند و تغییرات بافتی تومور مغزی با روش H&E و همچنین مقادیر پروتئینی NF- $\kappa$ B و IL-1 $\alpha$  با روش وسترن بلات ارزیابی شدند.

**یافته‌ها:** نسبت به گروه کنترل سالم گروه GBM تغییرات معنی‌دار بافتی (افزایش مساحت تومور) و افزایش مقادیر پروتئینی IL-1 $\alpha$  را نشان داد ( $p<0/05$ ). در بررسی تغییرات بافتی مشخص شد که گروه‌های GBM+RT، GBM+NCUR و GBM+RT+NCUR کاهش معنی‌داری را در مساحت تومور مغز را نسبت به گروه GBM نشان دادند. همچنین گروه GBM+RT+NCUR کاهش معنی‌دار در مساحت تومور را نسبت به گروه‌های GBM+RT و GBM+NCUR ( $p<0/05$ ) نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد برای ارزیابی تغییرات نشانگرهای التهابی درگیر در متابولیسم تومور باید از مدت زمان درمانی بیشتر، دوز متفاوت مکمل مصرفی، تمرینات ورزشی متفاوت، شدت و حجم تمرین ورزشی متنوع استفاده کرد. همچنین پیشرفت بیماری می‌تواند از عوامل تأثیرگذار بر عدم تغییر فاکتورهای مولکولی مطالعه حاضر باشد.

**کلیدواژه‌ها:** تومور، مغز، تمرین مقاومتی، کورکومین، مکمل نانو

\* نویسنده مسئول: دانشیار گروه فیزیولوژی فعالیت ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

نمابر: ۰۲۱۸۸۰۲۱۵۲۷

تلفن: ۰۹۱۲۲۱۲۵۴۲۸

ایمیل: shabkhiz@ut.ac.ir

## مقدمه

طریق عوامل ضدالتهابی و کنترل کننده متابولیکی نظیر تمرین ورزشی و مکمل‌های نانو می‌تواند یک هدف درمانی باشد. مطالعات اپیدمیولوژیک ارتباط معکوس بین فعالیت بدنی و خطر ابتلا به سرطان را نشان می‌دهد و آزمایشات کنترل شده در مدل‌های چوندگان این ادعاها را ثابت می‌کند. برای مثال، برخی تحقیقات از کاهش تومورزایی<sup>۲</sup> ناشی از تمرین ورزشی در مدل‌های موش سرطان سینه و سرطان روده بزرگ می‌کند (۶). اخیراً پیشنهاد شده است که کاهش التهاب ناشی از تمرین ورزشی ممکن است نقش مهمی در کنترل بیماری ایفا کند (۸). از طرفی التهاب با هر رویدادی که در ایجاد و پیشرفت سرطان نقش دارد مرتبط است و تمرین ورزشی برای کاهش فرآیندهای التهابی پیشنهاد شده است. برخی تحقیقات آزمایشگاهی از این ارتباط حمایت می‌کند، زیرا این مطالعات شاهد کاهش واسطه های التهابی با تمرین ورزشی در مدل‌های سرطانی چوندگان بوده که با کاهش تومورزایی مرتبط است (۶، ۷). نوس و همکاران بیان کردند که از دست دادن قدرتی عضلانی در مدل سرطان واکر ۲۵۶ (در مغز استخوان) با مرگ و میر مرتبط است، اما تمرینات مقاومتی به میزان متوسطی از پیشرفت آتروفی عضلانی این سرطان جلوگیری می‌کند (۹). دمینیک و همکاران همچنین نشان دادند که تمرین مقاومتی از اختلال در متابولیسم هموسیستئین و ظرفیت ردوکس کبدی در موش‌های صحرایی نر دارای تومور واکر ۲۵۶ جلوگیری می‌کند (۱۰). لذا تمرین مقاومتی می‌تواند تأثیر مفید در سطح سلولی در شرایط تومور داشته باشد. با این وجود اثر تمرین مقاومتی بر نشانگرهای التهابی در مدل سرطان مغز بررسی نشده است.

علاوه بر تمرینات ورزشی، استفاده از مکمل‌های گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌توانند در شرایط سرطان مؤثر باشند. ماده غیر سمی کورکومین ماده فعال زیستی اصلی استخراج شده از ریزوم گیاه *Curcuma longa* Linn است که یک مکمل گیاهی مفید می‌باشد (۱۱). کورکومین اثرات قوی ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد پیری، ضد تومور، ضد رگ‌زایی در تومور، ضد متاستاتیک، در سلول‌های سرطانی به روشی وابسته به غلظت و نوع سلول دارد (۱۲). اثرات ضد سرطانی ناشی از کورکومین در سلول‌های سرطانی از طریق تعدیل چندین عنصر انتقال سیگنال انکوژنیک از جمله NF-κB انجام می‌شود (۱۳). با این حال، کاربردهای درمانی کورکومین در انسان به دلیل بی‌ثباتی متابولیکی بالای آن و همچنین جذب و فراهمی زیستی ضعیف آن محدود شده است. آنالوگ‌ها و

سرطان یکی از بزرگترین عوامل مرگ و میر در جهان بوده و کنترل رشد تومور نیازمند توجه ویژه می‌باشد. از شایع‌ترین تومورهای بدخیم مغز انسان بالغ، گلیوماها هستند (۱). گلیوبلاستوما مولتی فرم (GBM) یک نئوپلازی بدخیم مغزی اولیه است که در سلول‌های گلیال رخ می‌دهد. پیشرفت و تکثیر بالای GBM منجر به کاهش کیفیت زندگی و مرگ و میر بالا در بیماران مبتلا می‌شود (۲). بنابراین بررسی مکانیسم‌های مولکولی و شبکه‌های ژنی مرتبط با توسعه و پیشرفت GBM و کنترل مسیرهای متابولیکی تومور با روش‌های درمانی متنوع، مورد نیاز است. شواهد حاکی از این است GBM یک تومور التهابی مغزی غیر قابل درمان می‌باشد. از طرفی مشاهده شده که پاتوژنز مولکولی GBM شامل تغییرات ژنتیکی مختلفی بوده که منجر به فعالیت مسیر سیگنالینگ نابجا از جمله رگ‌زایی، تنظیم چرخه سلولی، میکرومتاستاز و آپوپتوز می‌شود (۳). کارآزمایی‌های اخیر نشان می‌دهد که فعال شدن فاکتور هسته‌ای تقویت‌کننده‌ی زنجیره‌ی سبک کاپا از لنفوسیت‌های B فعال شده (NFκB)، به عنوان یک ویژگی مهم التهاب در بیماران GBM شناسایی می‌شود. جالب توجه است که اخیراً اشاره شده علائم التهابی GBM با ادم مغزی و نکروز بافت‌های اطراف، تحت تأثیر ماهیت تهاجمی سلول‌های GBM از طریق تورم ماکروفاژها/میکروگلیا و سایتوکاین‌های التهابی قرار می‌گیرد. همچنین، برخی از شواهد نشان داده است، تولید و فعالیت NFκB، باعث توسعه GBM شده و مقاومت شیمیایی ایجاد می‌کند (۴). به بیان دیگر NFκB باعث فعال‌سازی مسیرهای تکثیر سلولی، رگ‌زایی و آپوپتوز شده که در توسعه سرطان نقش دارند. علاوه بر NFκB، از دیگر فاکتورهای التهابی که در شرایط سرطان نقش دارد می‌توان به اینترلوکین-۱-آلفا (IL-1α) اشاره کرد. IL-1α یک سایتوکاین پیش‌التهابی بوده که باعث تحریک و تقویت پاسخ‌های التهابی در شرایط پاتولوژیک می‌شود. شواهد زیادی نشان می‌دهد که IL-1α در پاتوژنز سرطان نقش دارد (۵). نقش IL-1α در توسعه سرطان بحث برانگیز است زیرا این فاکتور التهابی هم نقش مثبت و هم ضد تومور را در انواع مختلف سرطان ایفا می‌کند (۵). در رابطه با مسیر سیگنالی این فاکتور همچنین بیان شده مسیر سیگنالینگ پس از اتصال IL-1α به گیرنده IL-1 نوع I (IL-1RI) آغاز می‌شود. در ادامه این مسیر می‌تواند مسیرهای متعدد حتی NFκB را نیز فعال کند (۵). کنترل این فاکتورهای سلولی از

<sup>2</sup>. Tumorigenesis

دسترسی آزاد

<sup>1</sup>. Nuclear factor kappa B (NF-κB)

مجله دانشگاه علوم پزشکی جیرفت / دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳

### کشت سلول‌های گلیوما

سلول‌های گلیوبلاستوما موشی رده C6 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی تهیه شد. سلول‌های C6 در فلاسک در محیط RPMI (Roswell Park Memorial Institute) (داروسازی جابرین حیان) و ۲ گرم در لیتر سدیم بی‌کربنات ۱۰٪ کشت داده شد. محیط کشت سلولی به حجم نهایی ۱۰۰۰ میلی‌لیتر، pH آن با ۷/۱ تنظیم گردید. مایع رویی پس از شستشو با بافر نمکی فسفات PBS (buffered saline Pho) و محلول تریپسین-EDTA ۰/۰۲۵٪ و با محیط FBS ۱۰٪ خنثی‌سازی شد. سپس محلول با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و سلول‌ها جداسازی شدند. تراکم اولیه برای کشت سلول  $100000 \text{ cell/cm}^2$  در نظر گرفته شد. در نهایت برای شمارش و بررسی بقای سلولی از ۱۰ میکرولیتر رنگ تریپان بلو (۴/۰ درصد وزنی-حجمی) و ۹۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی و لام نئوبار استفاده شد. درصد سلول‌های رنگ گرفته (آبی) به عنوان درصد سلول‌های مرده تعیین گردید.

### جراحی با استریوتاکس جهت القای مدل تومور مغز GBM با

قبل از شروع مطالعه موش‌ها سرطانی شدند. برای القای تومور، حیوانات با تزریق صفاقی کتامین (۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و زیلازین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بیهوش شدند (زیست فن‌آوران طب آزما، تهران، ایران). ابتدا موهای سر حیوان تراشیده شد. سپس با قرار دادن میله به داخل گوش‌ها و فیکس کردن دندان‌های فوقانی به دستگاه استریوتاکسی (Stoelting 1، مدل ۲۰۰۱۹۵۵۰۴) حیوان ثابت شد. پس از ایجاد برش پوستی در ناحیه پیشانی جمجمه و برداشتن پریوستوم، با استفاده از مته دندانپزشکی، باز کردن درپوش استخوان انجام شد. موقعیت کاشت با توجه به دستورالعمل‌های Swanson's Stereotaxic Atlas (۱۵) در مختصات زیر تعیین شده و روی استخوان مشخص شد: 2.0 mm anteroposterior, 2.0 mm laterolateral, and a depth of 2.5 mm.

سلول‌ها با غلظت  $5 \times 10^5 \text{ cells}/30 \mu\text{L}$  رقیق شدند (PBs). از یک سرنگ همیلتون برای کاشت ۱۰ میکرولیتر سلول محیط کشت در قشر پیشانی راست استفاده شد. سلول‌ها به مدت ۱۰ دقیقه به آرامی تزریق می‌شد. قبل از برداشتن، سرنگ به مدت ۲ دقیقه بیشتر در موقعیت قرار می‌گرفت. برای جلوگیری از کشیدن محلول تزریق شده به داخل سوزن، سرنگ به آرامی

### دسترس‌ی آزاد

فرمول‌های مصنوعی کورکومین، از جمله کمپلکس شدن آن با میسل‌های پلیمری یا کپسوله‌سازی<sup>۱</sup> مبتنی بر نانوذرات، پایداری شیمیایی، فراهمی زیستی سیستمیک و فعالیت‌های ضد توموری بیشتری را نسبت به کورکومین طبیعی نشان می‌دهند (۱۴). با وجود اثرات مفید تمرین مقاومتی و مکمل نانوکورکومین، مطالعات محدود به بررسی مسیرهای کنترل التهابی و متابولیسم توموری در اثر تمرین ورزشی به ویژه مقاومتی همراه با مکمل نانوکورکومین پرداخته‌اند. از این‌رو، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرین مقاومتی و مصرف مکمل نانوکورکومین بر مقادیر پروتئینی IL-1 $\alpha$  و NF-kB در موش‌های صحرایی مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم می‌باشد.

### روش کار

#### حیوانات و گروه‌بندی

جهت انجام تحقیق تجربی مطالعه حاضر ابتدا ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار<sup>۲</sup> با سن تقریبی هشت هفته و با محدوده وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور کرج (ایران) تهیه و سپس به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی حیوانات منتقل شدند. تمامی موش‌های صحرایی در شرایط دمایی  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت نسبی ۴۵ درصد در قفس‌های ۳ تایی نگهداری شدند. در طول این مدت دسترسی به آب و غذا به صورت آزاد بود. حیوانات به مدت ۲ هفته با محیط آزمایشگاه آشنا شده (یک هفته آشنایی محیط، یک هفته آشنایی تمرین مقاومتی) و تحت جراحی جهت القای سرطان مغز با گلیوبلاستوما مولتی فرم (GBM) قرار گرفتند. همچنین، یک گروه به عنوان گروه کنترل سالم در نظر گرفته شد. پس از جراحی موش‌های صحرایی و گذراندن دوره توانبخشی اولیه به ۵ گروه مساوی تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل سالم (HC)
۲. گروه گلیوبلاستوما مولتی فرم (GBM)
۳. گروه گلیوبلاستوما مولتی فرم + تمرین مقاومتی (GBM+RT)
۴. گروه گلیوبلاستوما مولتی فرم + نانوکورکومین (GBM+NCUR)
۵. گروه گلیوبلاستوما مولتی فرم + تمرین مقاومتی + نانوکورکومین (GBM+RT+NCUR)

<sup>1</sup>. Encapsulate

<sup>2</sup>. Wistar rat

به مدت ۳ روز در هفته، طبق جدول ۱ بر روی نردبان صورت گرفت (۱۶). مرحله آشناسازی موش‌های صحرایی با مدل تمرینی و بالا رفتن از نردبان قبل از القای تومور انجام شد.

بلند شد تا اینکه کاملاً از مغز خارج شود. سپس استخوان با استفاده از موم بسته شد و پوست با استفاده از نخ پنبه بخیه شد.

### برنامه تمرین مقاومتی

برنامه تمرینی مطالعه حاضر برای موش‌های صحرایی گروه تمرین بعد از القای تومور (بعد از دو هفته) برای مدت ۴ هفته،

جدول ۱. پروتکل تمرین مقاومتی

دوره تمرین	اضافه بار (% وزن بدن)	ست	تکرار	استراحت	فرکانس (روز در هفته)
مرحله آشناسازی	۰	۳-۵	۴	بین تکرارها ۶۰ ثانیه بین ست‌ها ۳ دقیقه	۳
هفته اول	۳۰	۳-۵	۴	تزریق سلول سرطانی C6	۳
هفته دوم	۵۰	۳-۵	۴	//	۳
هفته سوم	۸۰	۳-۵	۴	//	۳
هفته چهارم	۱۰۰	۳-۵	۴	//	۳

سالمین، خون و مواد اضافی تمیز شد و بافت داخل میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری کدگذاری شده قرار گرفت. میکروتیوب‌ها داخل تانک ازت انتقال داده شد، سپس تا زمان آنالیزهای سلولی داخل فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که برای ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک نیز مقداری از بافت در فرمالین ۹٪ نگه داری شد.

### بافت شناسی

ابتدا لام‌ها درون فور (Vinteb) در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته تا پارافین‌های موجود در نمونه ذوب گردد. در مرحله دوم پارافین‌زدایی، نمونه‌ها در داخل زایلول ۱ و ۲ (Sigma-1330-20-7) هر کدام به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. برای رنگ کردن نمونه ابتدا آبدهی بافت صورت گرفت. لام‌ها به مدت ۷ ثانیه داخل رنگ همتاکسیلین (Sigma-H9627) گذاشته شده، سپس در آب مقطر به مدت ۱ دقیقه شستشو داده شد. نمونه‌ها ۲ ثانیه داخل کربنات لیتیوم (Sigma-1.05680) قرار گرفته شد و پس از آن ۳ دقیقه داخل رنگ اتوزین (Sigma-HT110116) قرار گرفت. در ادامه به منظور آب‌گیری بافت، لام‌ها به الکل مطلق رسانیده شد. سپس برای شفاف سازی نمونه‌ها داخل زایلول ۱ و زایلول ۲ هر کدام به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. و در انتها یک قطره چسب انتلان (Sigma-1.07961) را روی نمونه قرار داده و لامل روی لام چسبانده شده و با میکروسکوپ نوری عکس برداری انجام شد. بخشی از تصویر که محل حضور توده سلول‌های توموری است توسط نرم‌افزار Image J مشخص و تعیین محدوده توموری، مساحت براساس مقیاس خطی مشخص شده

دسترسی آزاد

### تهیه مکمل نانو کورکومین

برای آماده سازی مکمل نانو کورکومین از نانو ذرات کیتوزان خالی طبق مطالعه ویجایاکورپ و همکاران استفاده شد (۱۷). کیتوزان به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ۲٪ حجمی حل و با ۵۰ میلی‌لیتر کورکومین در اتانول (۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) مخلوط شد. ۱۵ میلی‌لیتر ۱٪ وزنی حجمی از محلول تری پلی فسفات (TPP) به آن اضافه شد. سپس محلول تهیه شده به مدت یک ساعت بیشتر هم زده شد و بعد در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا نانوذرات کیتوزان محصور در کورکومین به دست آید. اندازه و ساختار نانو ذرات تشکیل شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی اسکنیک، سایز ذرات با دستگاه Zeta sizer و پایداری محصول با دستگاه DLS تجزیه و تحلیل شد. از نانو کورکومین تجاری ساخته شده اکسیر نانو سینا (تهران، ایران) به عنوان نمونه مقایسه‌ای کیفیت محصول استفاده شد. در نهایت پس از تهیه محصول، برای هر حیوان ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد.

### بافت برداری

۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله تمرینی تمامی موش‌های صحرایی به مدت ۱۰-۸ ساعت ناشتا شده و برای قربانی شدن آماده شدند. بی‌هوشی با ترکیب کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) انجام شد (۱۸). پس از بی‌هوشی کامل و مطمئن شدن از عدم هوشیاری، خون‌گیری از بطن چپ قلب انجام گردید. سپس به سرعت بافت مغز از جمجمه خارج شده و با شستشوی بافر فسفات

مجله دانشگاه علوم پزشکی جیرفت / دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳

اتاق قرار داده شد (رقیق شدن آنتی‌بادی‌ها با TBST انجام شد). شستشو ۳ بار و هر بار ۵ دقیقه با TBST انجام شد. غشا در محلول آنتی‌بادی ثانویه (m-IgGκ BP-HRP: sc-) (516102, Santa Cruz Biotechnology mouse anti-) و (rabbit IgG-HRP: sc-2357, Santa Cruz Biotechnology) با رقت مناسب به مدت ۲ ساعت بر روی تکان‌دهنده در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شد. ۳ بار شستشو با TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و چگالی ستون‌ها با نرم افزار J Image اندازه‌گیری شده و بر حسب مقدار بیان بتا‌اکتینین نرمال شدند.

### تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از آمار توصیفی و برای محاسبه شاخص‌های مرکزی و پراکندگی شد، برای توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد (جدول ۲). از آزمون آماری آنوا یک راهه و تست تعقیبی توکی برای بررسی تغییرات متغیرها در سایر گروه‌های تحقیق استفاده شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام گرفت و سطح معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار آماری Graph Pad Prism 9 استفاده شد.

در هر تصویر در واحد میکرومتر مربع براساس میزان بزرگنمایی تصویر ثبت گردید. این میزان در سه تصویر مختلف با فاصله برش حداقل ۲۰ میکرومتر محاسبه و با احتیاس فاصله بین تصاویر، حجم بخشی از تومور محاسبه گردید.

### وسترن بلات

برای انجام وسترن بلات ابتدا طبق مطالعات قبلی ژل SDS (با ولتاژ ۹۰) تفکیک شد ولی این بار رنگ آمیزی صورت نگرفت تا در ادامه مراحل وسترن بلات انجام گردد. پروتئین‌ها بر روی ژل SDS-PAGE بر اساس اندازه تفکیک می‌شوند. پروتئین‌های تفکیک شده بر روی ژل با ولتاژ ۱۰۰ به مدت یک ساعت و نیم به کاغذ PVDF با منافذ ۰/۴۵ میکرومتر به صورت پیوسته و مرطوب منتقل شدند.

پس از اتمام مرحله ترانسفر کاغذ PVDF در محلول بلاکر به مدت ۲ ساعت بر روی تکان‌دهنده در دمای محیط و سپس یک شبانه در آنتی‌بادی اولیه (NF-κB: AB16502, (IL-1α:sc-12742, Santa Cruz, Abcam) (Biotechnology) و (β-Actin (2A3): sc-517582)) در یخچال قرار داده شد. روز بعد شستشو ۳ بار و هر بار ۵ دقیقه با TBST انجام شد. غشای PVDF در محلول آنتی‌بادی اولیه با رقت مناسب به مدت ۳ ساعت بر روی تکان‌دهنده در دمای

جدول ۲. نتایج آزمون شاپیروویلیک برای متغیرهای مختلف تحقیق

متغیر	گروه	آماره	معنی‌داری
NF-κB	HC	۰/۹۹۹	۱/۰۰۰
	GBM	۰/۹۳۹	۰/۵۲۳
	GBM+RT	۰/۸۹۸	۰/۳۷۹
	GBM+NCUR	۰/۸۲۶	۰/۱۷۹
IL-1α	GBM+RT+NCUR	۰/۸۴۰	۰/۲۱۴
	HC	۰/۹۹۹	۱/۰۰۰
	GBM	۰/۸۳۹	۰/۲۱۱
	GBM+RT	۰/۹۰۵	۰/۴۰۱
مساحت تومور	GBM+NCUR	۰/۷۹۶	۰/۱۰۴
	GBM+RT+NCUR	۰/۷۷۵	۰/۰۵۷
	HC	۰/۹۲۹	۰/۴۸۵
	GBM	۰/۹۹۲	۰/۸۳۱
مساحت تومور	GBM+RT	۰/۸۹۱	۰/۳۵۶
	GBM+NCUR	۰/۷۹۷	۰/۱۰۹
	GBM+RT+NCUR	۰/۹۹۲	۰/۸۳۱

$p > 0.05$ : طبیعی بودن توزیع داده‌ها، HC: گروه کنترل سالم، GBM: گروه گلیوبلاستومای مولتی‌فرم، GBM+RT: گروه گلیوبلاستومای مولتی‌فرم+تمرین مقاومتی فزاینده، GBM+NCUR: گروه گلیوبلاستومای مولتی‌فرم+مکمل نانوکورکومین، GBM+RT+NCUR: گروه گلیوبلاستومای مولتی‌فرم+تمرین مقاومتی فزاینده+مکمل نانوکورکومین.

دسترسی آزاد

مجله دانشگاه علوم پزشکی جیرفت / دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳

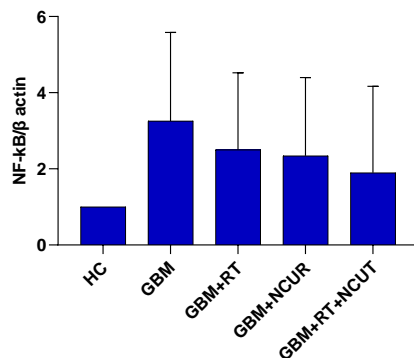
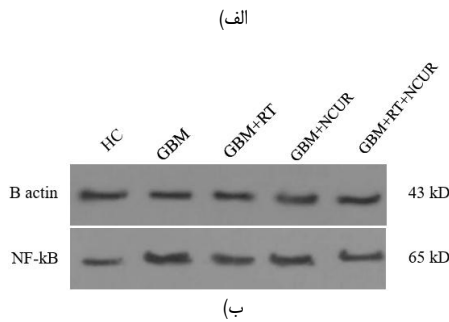
## نتایج

### تصویر بافتی

تغییرات بافتی ناحیه توموری مغز موش‌های صحرایی با استفاده از روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) در گروه‌های مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج آزمون آماری آنوا یک راهه نشان داد که بین گروه‌های مختلف تحقیق در میزان ناحیه توموری گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $F=69/58$  و  $p<0/001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که تمام گروه‌های توموری افزایش معنی‌داری را در ناحیه تومور مغز نسبت به گروه کنترل سالم (HC) نشان دادند ( $p<0/001$ ). با این وجود گروه‌های GBM+RT ( $p<0/05$ ), GBM+RT+NCUR و GBM+NCUR ( $p<0/05$ ) کاهش معنی‌داری را در ناحیه تومور مغز نسبت به گروه GBM نشان دادند. همچنین بیشترین کاهش در ناحیه توموری مربوط به گروه درمان ترکیبی بود که این کاهش نسبت به گروه‌های GBM+RT ( $p<0/01$ ) و GBM+NCUR ( $p<0/01$ ) نیز معنی‌دار بود (شکل ۱).

### مقادیر پروتئینی NF-κB

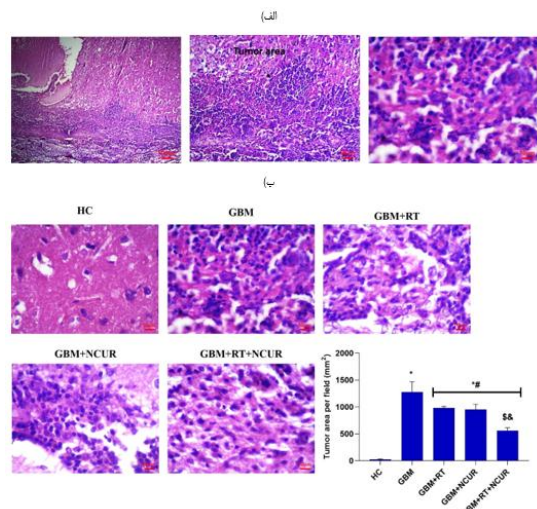
در مطالعه حاضر برای بررسی تغییرات مقادیر پروتئین NF-κB در بافت مغز توموری از روش وسترن بلات استفاده شد. نتایج آزمون آماری آنوا یک‌راهه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در مقادیر پروتئینی NF-κB بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود ندارد ( $F=1/096$  و  $p>0/380$ ). در بررسی نتایج شکل ۲ هر چند گروه‌های درمانی به ویژه درمان ترکیبی سبب کاهش مقادیر پروتئینی NF-κB شد اما این کاهش معنی‌دار نبود ( $p>0/05$ ).



شکل ۲. تغییرات مقادیر پروتئینی NF-κB در مغز توموری شده موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف تحقیق با استفاده از تکنیک وسترن بلات (الف و ب). بر اساس باندهای ارائه شده (الف) و نتایج کمی شده (ب) تغییرات قابل توجهی در بیان پروتئین وجود نداشت.

### مقادیر پروتئینی IL-1α

در مطالعه حاضر برای بررسی تغییرات مقادیر پروتئینی IL-1α در بافت مغز توموری از روش وسترن بلات استفاده شد. نتایج آزمون آماری آنوا یک‌راهه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در مقادیر پروتئینی IL-1α بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد ( $F=4/66$  و  $p<0/05$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که نسبت به گروه کنترل سالم گروه‌های GBM ( $p<0/05$ ) و GBM+NCUR ( $p<0/05$ ) افزایش معنی‌دار در مقادیر پروتئینی IL-1α را نشان دادند. در بررسی نتایج شکل ۲ هر



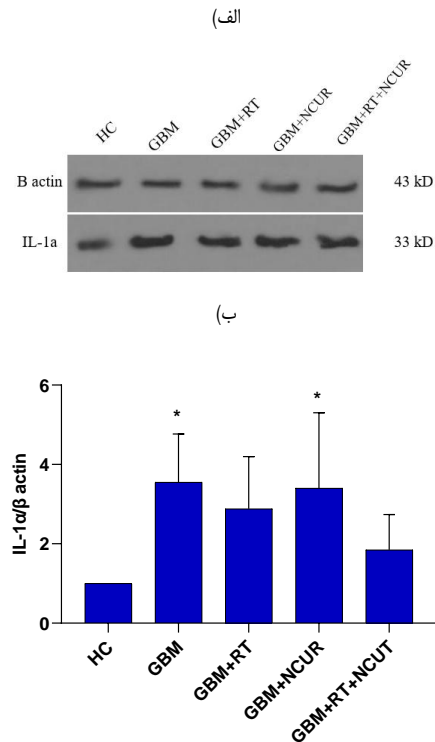
شکل ۱. تصویر بافتی مغز توموری شده (الف و ب) توسط گلیوبلاستوما مولتی فرم. رنگ‌آمیزی با تکنیک H&E و بزرگنمایی 10 um. با توجه به الف (بزرگنمایی در ۳ اندازه ۱۰۰، ۵۰، ۱۰) ناحیه توموری نیز با پیکان مشکی نشان داده شده است. گروه‌های درمانی به ویژه درمان ترکیبی (GBM+RT+NCUR) بیشترین کاهش در ناحیه تومور را در بافت مغز نشان دادند. انسجام بافتی نیز در این گروه بهبود قابل توجهی را نشان داد. میزان نفوذ سلول‌های GBM نیز در گروه‌های درمانی کمتر به نظر می‌رسد\*: نشانه معنی‌داری نسبت به گروه HC می‌باشد ( $p<0/05$ ), #: نشانه معنی‌داری نسبت به گروه GBM می‌باشد ( $p<0/05$ ), §: نشانه معنی‌داری نسبت به گروه GBM+RT می‌باشد ( $p<0/05$ ), &: نشانه معنی‌داری نسبت به گروه GBM+NCUR می‌باشد ( $p<0/05$ ).

حاضر بررسی تأثیر تمرین مقاومتی فزاینده همراه با یک مکمل آنتی‌اکسیدانتی و ضدالتهابی قوی (نانوکورکومین) در بیان نشانگرهای پروتئینی NF- $\kappa$ B و IL-1 $\alpha$  درگیر در متابولیسم تومور در موش‌های صحرایی مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم می‌باشد.

تغییرات بافتی تومور در مطالعه حاضر نشان داد که انجام تمرین مقاومتی و همچنین مصرف مکمل نانوکورکومین و به ویژه ترکیب این دو با یکدیگر به طور معنی‌داری مساحت بافت تومور را در مغز کاهش داد. سلول‌های بدخیم به دلیل جهش، تکثیر، رشد و رگ‌زایی غیر طبیعی دارند (۲۰). مشخص شده است که GBM دارای جهش‌های ژنتیکی و اپی ژنتیک زیادی است. در مطالعه حاضر مشخص شد که تمرین مقاومتی و مکمل نانوکورکومین می‌تواند جلو برخی جهش‌های GBM را بگیرد زیرا که تکثیر این سلول‌ها در گروه‌های درمانی کاهش و در نتیجه منجر به آتروفی بافتی تومور شد. فلاونوئیدها رایج‌ترین و پراکنده‌ترین مواد شیمیایی گیاهی در میوه‌ها و سبزیجات هستند. فلاونوئیدهای مختلف مانند تانن‌ها، کینون‌ها، استیلین‌ها و کورکومینوئیدها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد ویروسی، ضد جهش‌زایی و مهمتر از همه، ضد سرطان هستند (۲۱). بنابراین با توجه به نتایج مطالعات قبلی و مطالعه حاضر، بنظر می‌رسد استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند کورکومین برای کنترل تومور می‌تواند در کنترل رشد تومور به صورت معنی‌داری مؤثر باشد. همسو با این نتایج چندین مطالعه پیش بالینی و بالینی نیز اثرات ضد سرطانی آن را در سرطان پانکراس، ریه و GBM گزارش کردند (۲۲). علاوه بر این، کورکومین بسیار چربی دوست است و قادر به عبور از سد خونی مغزی (BBB) می‌باشد (۲۳). در مطالعه حاضر نیز از فرم نانو این مکمل استفاده شد لذا در کنار خواص آنتی‌اکسیدانی ناشی از تمرین می‌تواند در تغییرات بافتی تومور مؤثر باشد. مطالعات محدودی نقش مولکولی و بافتی تمرین ورزشی را در تومور مغز بررسی کرده‌اند، برای مثال هاردی و همکاران اخیراً گزارش کردند که شرکت در تمرینات مقاومتی (RE) با ۳۳٪ کاهش خطر مرگ و میر ناشی از همه علل در میان ۲۸۶۳ بازمانده از سرطان در طی یک دوره ۷ ساله مرتبط است (۲۴). مطالعات حیوانی نشان داده است که ورزش در موش‌های مبتلا به گلیوبلاستوما می‌تواند اختلال عملکرد حرکتی را به تأخیر بیندازد. در انسان‌های مبتلا به سرطان مغز، داده‌های اولیه نشان می‌دهد که ورزش بی‌خطر، امکان‌پذیر و احتمالاً مفید است. به طور خاص، بهبود در شدت علائم، ترکیب بدن، سطح فعالیت، ظرفیت هوازی،

دسترس‌ی آزاد

چند گروه‌های درمانی به‌ویژه درمان ترکیبی سبب کاهش در مقادیر پروتئینی IL-1 $\alpha$  شد اما این کاهش نسبت به گروه GBM معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ).



**شکل ۳.** تغییرات مقادیر پروتئینی IL-1 $\alpha$  در مغز توموری شده موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف تحقیق با استفاده از تکنیک وسترن بلات (الف و ب). بر اساس باندهای ارائه شده (الف) و نتایج کمی شده (ب) تغییرات قابل توجهی در بیان پروتئین بین گروه‌های GBM وجود نداشت. تنها این تغییرات نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود. \*: نشانه معنی‌داری نسبت به گروه HC می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

## بحث

بیماران مبتلا به سرطان مغز و سایر سرطان‌های سیستم عصبی مرکزی، اثرات فیزیکی، شناختی و عاطفی ناتوان‌کننده‌ای را تجربه می‌کنند که به طور قابل توجهی کیفیت زندگی را به خطر می‌اندازد. راهبردهای دارویی مؤثر یا مداخلات مراقبت حمایتی برای بهبود این عواقب وجود دارد. شواهد متقنی وجود دارد که نشان می‌دهد تمرین ورزشی ممکن است یک مداخله مؤثر برای کمک به مدیریت اختلالات عصبی-انکولوژیک باشد. تحقیقات بالینی اثربخشی ورزش مناسب را در مقابله با آسیب‌های فیزیکی مانند خستگی و زوال عملکرد، اختلال شناختی و همچنین اثرات روان‌شناختی از جمله افسردگی و اضطراب ثابت کرده‌اند (۱۹). در سطح سلولی نیز تمرین ورزشی می‌تواند تأثیرات قابل توجهی بر جای گذارد. لذا هدف از مطالعه

مجله دانشگاه علوم پزشکی جیرفت / دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳

سلولی، آپوپتوز، رگ‌زایی، متاستاز و پیشرفت تومور را تحریک می‌کند (۳۱). محیط تومور همچنین شامل سلول‌های گلیال و محصولات التهابی آنها از جمله IL-1a بوده که رشد و پیشرفت تومور مغز را تنظیم می‌کند. بر اساس مطالعات افزایش IL-1 در سلول‌های توموری به ویژه گلیوبلاستوما، با پیامدهایی از قبیل افزایش تهاجم، مهاجرت و رگ‌زایی همراه است (۳۲). لذا کنترل این فاکتورها اهداف جدیدی را برای مقابله با گلیوبلاستوما فراهم می‌کند. علاقه قابل توجهی به توانایی کورکومین در مهار فعالیت مسیر NF-κB و IL-1a وجود دارد (۳۳). با این حال، به دلیل فراهمی زیستی کم، جذب ضعیف و متابولیسم سریع، کارآزمایی‌های بالینی دوزهای بالای ۱۲ گرم در روز کورکومین را به صورت خوراکی پیشنهاد داده‌اند. این در حالی بود که در مطالعه حیوانی حاضر از مکمل نانو شده کورکومین با دوز ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد که می‌تواند فراهمی زیستی بهتری داشته باشد اما با توجه به تأثیر غیر معنی‌دار آن بر پروتئین NF-κB و IL-1a بافت توموری، به نظر می‌رسد با توجه به شدت بیماری و تکثیر بالای GBM، اگر دوزهای بالاتر این مکمل استفاده می‌شد تأثیرات بهتری از لحاظ مولکولی برجای می‌گذاشت. اگرچه استفاده از دوزهای بالاتر ممکن است برای برخی از بیماران غیرقابل قبول باشد، اما هیچ سمیت محدود کننده دوز در مطالعات گزارش نشده است (۳۴). Dhillon و همکاران بیان کردند که کورکومین در دوزهای بالا اثربخشی بالقوه‌ای را در بیماران مبتلا به سرطان پانکراس در مراحل پیشرفته ایجاد می‌کند (۳۵). Rajasekar و همکاران نیز از دوز ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، در نمونه موش استفاده کرده و بیان کردند که استفاده از دوزهای بالاتر (۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به دلیل افزایش حلالیت، پراکندگی و کریستالی بودن نانوذره‌ها فراهمی زیستی آن را افزایش و تأثیرات آنتی‌اکسیدانی بهتری برجای می‌گذارد (۳۶). لذا این داده‌ها نشان می‌دهد که کورکومین دارای پتانسیل درمانی است که ممکن است با ملاحظات دوز محدود شود.

### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد انجام تمرین مقاومتی و مصرف مکمل نانوکورکومین می‌تواند در کاهش مساحت تومور تأثیر مطلوبی داشته باشد. با این وجود کاهش مساحت تومور با ۴ هفته تمرین مقاومتی و مصرف مکمل نانوکورکومین مجزا از تنظیم مسیر مولکولی IL-1a و NF-κB

عملکرد عصبی شناختی، سردرد، سلامت روان و کیفیت زندگی با انجام تمرین ورزشی گزارش شده است (۲۵). همچنین ورزش می‌تواند رشد تومور را از طریق مکانیسم‌های متعددی مانند کنترل عروق‌زایی و پرفیوژن، تعدیل ایمنی، تنظیم متابولیسم تومور و تعامل عضله و تومور، کاهش دهد. شواهدی از این مکانیسم‌ها در حال ظهور است، اما مطالعات مداخله‌ای بیشتری برای ایجاد رابطه علت و معلولی بین این مکانیسم‌ها و کنترل رشد تومور توصیه می‌شود (۲۶).

نفوذ ماکروفاژها در محیط تومور به عنوان یک عامل مهم برای رشد تومور در نظر گرفته می‌شود. ماکروفاژها لیگاندهای گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR) را ترشح می‌کنند که در نهایت باعث تولید STAT3 و NF-κB می‌شود. این فاکتورها به توسعه تومور و مقاومت در برابر درمان کمک می‌کنند. بر اساس مطالعات مشخص شده که تمرین بدنی باعث کنترل ماکروفاژها در محیط توموری می‌شود لذا توانایی کنترل فاکتورهای STAT3 و NF-κB بافت تومور را دارد (۲۷). Padilha و همکاران نیز تأیید کردند که ورزش مقاومتی فاکتورهای پیش التهابی از جمله NF-κB و کاشکسی را در موش‌های حامل تومور Walker-256 کاهش می‌دهد (۲۸). همچنین تأیید شده که تمرینات قدرتی و استقامتی در مغز موش‌ها می‌تواند فاکتورهای پیش التهابی از جمله IL-1a را کاهش دهد (۲۹). حاجی نجف و همکاران تأثیر تمرین تداومی با شدت متوسط و مکمل‌سازی نانوکورکومین را بر بیان ژن STAT3 در موش‌های مبتلا به تومور مغزی گلیوبلاستوما مولتی‌فرم بررسی کردند. در این مطالعه از تمرین هوازی روی تردمیل به مدت ۴ هفته استفاده شد که همزمان مکمل نانو کورکومین نیز به گروه‌های مکمل گاوژ می‌شد. در نهایت این محققان بیان کردند که به نظر می‌رسد با کاهش بیان ژن STAT3 و اندازه تومور مغزی، ترکیب تمرین تداومی با شدت متوسط و مکمل نانو کورکومین نقش درمانی در روند تومور بدخیم گلیوبلاستوما مولتی فرم داشته باشد (۳۰). در مطالعه حاضر هرچند کاهش اندازه تومور با تصاویر هیستولوژی تأیید شد اما تغییرات STAT3 بررسی نشد، همچنین در مطالعه حاضر فاکتورهای NF-κB و IL-1a ارزیابی شد که تغییرات آنها نیز غیرمعنی‌دار بود. که به نظر می‌رسد تمرین هوازی بر کنترل این فاکتورهای مولکولی تومور نیز تأثیرگذارتر باشد. نشان داده شده است که NF-κB با القا و حفظ یک محیط پیش التهابی نقش مهمی در توسعه سرطان ایفا می‌کند، به بیان دیگر فعال‌سازی NF-κB، از طریق مکانیسم‌هایی مانند تکثیر

### ملاحظات اخلاقی

پروتکل‌های اجرا شده در این مطالعه بر مبنای دستورالعمل کمیته تحقیقات و اخلاق دانشکده تربیت بدنی دانشگاه شهید بهشتی و کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی با کد مصوبه اخلاق صورت گرفت (کد اخلاق: IR.SBU.REC.1402.135).

### مشارکت نویسندگان

حسین شیروانی: ایده، طراحی و اجرای مطالعه  
فاطمه شب‌خیز: ایده، طراحی و نظارت بر حسن اجرای مطالعه؛  
نگارش مقاله؛ آنالیز آماری؛  
مهدی بی‌غم: ایده، طراحی و نظارت بر حسن اجرای مطالعه  
موسی خلفی: انجام مطالعه؛ آنالیز آماری.

### References

1. Inaba N, Kimura M, Fujioka K, Ikeda K, Somura H, Akiyoshi K, et al. The effect of PTEN on proliferation and drug-, and radiosensitivity in malignant glioma cells. *Anticancer Research*. 2011;31(5):1653-8.
2. Lötsch D, Steiner E, Holzmann K, Spiegl-Kreinecker S, Pirker C, Hlavaty J, et al. Major vault protein supports glioblastoma survival and migration by upregulating the EGFR/PI3K signalling axis. *Oncotarget*. 2013;4(11):1904.
3. Afshari AR, Jalili-Nik M, Soukhtanloo M, Ghorbani A, Sadeghnia HR, Mollazadeh H, et al. Auranofin-induced cytotoxicity mechanisms in human malignant glioblastoma (U87) cells: role of reactive oxygen species (ROS). *EXCLI Journal*. 2019;18:576.
4. Murray PG, Flavell JR, Baumforth KR, Toomey S, Lowe D, Crocker J, et al. Expression of the tumour necrosis factor receptor associated factors 1 and 2 in Hodgkin's disease. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2001;194(2):158-64.
5. Chiu JW, Binte Hanafi Z, Chew LCY, Mei Y, Liu H. IL-1 $\alpha$  processing, signaling and its role in cancer progression. *Cells*. 2021;10(1):92.
6. McClellan JL, Steiner JL, Day SD, Enos RT, Davis MJ, Singh UP, et al. Exercise effects on polyp burden and immune markers in the ApcMin/+ mouse model of intestinal tumorigenesis. *International Journal of Oncology*. 2014;45(2):861-8.
7. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux T, McClellan J, Steiner J, Carmichael M, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine*. 2011;55(2):274-9.

دسترسی آزاد

است. لذا پیشنهاد می‌شود از مدالیت‌های متنوع تمرینی به ویژه در مدت زمان طولانی تر استفاده شود.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از کمک‌های گروه فیزیولوژی دانشگاه تهران در این مطالعه قدردانی می‌کنند.

### تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

### حمایت مالی

ندارد.

8. Metsios GS, Moe RH, Kitas GD. Exercise and inflammation. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2020;34(2):101504.
9. Das Neves W, Alves CRR, de Almeida NR, Guimarães FLR, Ramires PR, Brum PC, et al. Loss of strength capacity is associated with mortality, but resistance exercise training promotes only modest effects during cachexia progression. *Life Sciences*. 2016;163:11-22.
10. Deminice R, de Souza Padilha C, Borges F, da Silva LECM, Rosa FT, Robinson JL, et al. Resistance exercise prevents impaired homocysteine metabolism and hepatic redox capacity in Walker-256 tumor-bearing male Wistar rats. *Nutrition*. 2016;32(10):1153-8.
11. Aggarwal BB. Targeting inflammation-induced obesity and metabolic diseases by curcumin and other nutraceuticals. *Annual Review of Nutrition*. 2010;30:173-99.
12. Heng MC. Curcumin targeted signaling pathways: basis for anti-photoaging and anticarcinogenic therapy. *International Journal of Dermatology*. 2010;49(6):608-22.
13. Sharma C, Kaur J, Shishodia S, Aggarwal BB, Ralhan R. Curcumin down regulates smokeless tobacco-induced NF- $\kappa$ B activation and COX-2 expression in human oral premalignant and cancer cells. *Toxicology*. 2006;228(1):1-15.
14. Yallapu MM, Maher DM, Sundram V, Bell MC, Jaggi M, Chauhan SC. Curcumin induces chemo/radio-sensitization in ovarian cancer cells and curcumin nanoparticles inhibit ovarian cancer cell growth. *Journal of Ovarian Research*. 2010;3:1-12.
15. Swanson L. *Brain maps: structure of the rat brain*: Gulf Professional Publishing; 2004.
16. Luciano TF, Marques S, Pieri B, De Souza DR, Araújo L, Nesi R, et al. Responses of skeletal

مجله دانشگاه علوم پزشکی جیرفت / دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳

- muscle hypertrophy in Wistar rats to different resistance exercise models. *Physiological Research*. 2017;66(2):317.
17. Vijayakurup V, Thulasidasan AT, Shankar G M, Retnakumari AP, Nandan CD, Somaraj J, et al. Chitosan encapsulation enhances the bioavailability and tissue retention of curcumin and improves its efficacy in preventing B [a] P-induced lung carcinogenesis. *Cancer Prevention Research*. 2019;12(4):225-36.
18. Wellington D, Mikaelian I, Singer L. Comparison of ketamine–xylazine and ketamine–dexmedetomidine anesthesia and intraperitoneal tolerance in rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2013;52(4):481-7.
19. Sharma B, Allison D, Tucker P, Mabbott D, Timmons BW. Exercise trials in pediatric brain tumor: A systematic review of randomized studies. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2021;43(2):59-67.
20. Olar A, Aldape KD. Using the molecular classification of glioblastoma to inform personalized treatment. *The Journal of Pathology*. 2014;232(2):165-77.
21. Chahar MK, Sharma N, Dobhal MP, Joshi YC. Flavonoids: A versatile source of anticancer drugs. *Pharmacognosy Reviews*. 2011;5(9):1.
22. Dützmann S, Schiborr C, Kocher A, Pilatus U, Hattingen E, Weissenberger J, et al. Intratumoral concentrations and effects of orally administered micellar curcuminoids in glioblastoma patients. *Nutrition and Cancer*. 2016;68(6):943-8.
23. Chiu SS, Lui E, Majeed M, Vishwanatha JK, Ranjan AP, Maitra A, et al. Differential distribution of intravenous curcumin formulations in the rat brain. *Anticancer Research*. 2011;31(3):907-11.
24. Hardee JP, Porter RR, Sui X, Archer E, Lee I-M, Lavie CJ, et al., editors. The effect of resistance exercise on all-cause mortality in cancer survivors. *Mayo Clinic Proceedings*; 2014: 89(8):1108-15.
25. Sandler CX, Matsuyama M, Jones TL, Bashford J, Langbecker D, Hayes SC. Physical activity and exercise in adults diagnosed with primary brain cancer: a systematic review. *Journal of Neuro-oncology*. 2021;153:1-14.
26. Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine—evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2015;25:1-72.
27. Silveira LS, Batatinha HAP, Castoldi A, Câmara NOS, Festuccia WT, Souza CO, et al. Exercise rescues the immune response fine tuned impaired by peroxisome proliferator activated receptors  $\gamma$  deletion in macrophages. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(4):5241-51.
28. Padilha CS, Borges FH, Costa Mendes da Silva LE, Frajacomo FTT, Jordao AA, Duarte JA, et al. Resistance exercise attenuates skeletal muscle oxidative stress, systemic pro-inflammatory state, and cachexia in Walker-256 tumor-bearing rats. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2017;42(9):916-23.
29. Krüger K, Bredehöft J, Mooren FC, Rummel C. Different effects of strength and endurance exercise training on COX-2 and mPGES expression in mouse brain are independent of peripheral inflammation. *Journal of Applied Physiology*. 2016;121(1):248-54.
30. Hajinajaf S, Shirvani H, Roozbehani M, Khademi A. The effect of moderate-intensity continuous training and nanocurcumin supplementation on STAT3 gene expression in mice with glioblastoma multiforme brain tumor. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2022;21(3):408-421. (In persian)
31. Xia Y, Shen S, Verma IM. NF- $\kappa$ B, an active player in human cancers. *Cancer Immunology Research*. 2014;2(9):823-30.
32. Tarassishin L, Lim J, Weatherly DB, Angeletti RH, Lee SC. Interleukin-1-induced changes in the glioblastoma secretome suggest its role in tumor progression. *Journal of Proteomics*. 2014;99:152-68.
33. Kalinski T, Sel S, Hütten H, Röpke M, Roessner A, Nass N. Curcumin blocks interleukin-1 signaling in chondrosarcoma cells. *PLoS One*. 2014;9(6):e99296.
34. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti F, Torti S. Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2008;65:1631-52.
35. Dhillon N, Aggarwal BB, Newman RA, Wolff RA, Kunnumakkara AB, Abbruzzese JL, et al. Phase II trial of curcumin in patients with advanced pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research*. 2008;14(14):4491-9.
36. Rajasekar, A. Facile synthesis of curcumin nanocrystals and validation of its antioxidant activity against circulatory toxicity in Wistar rats. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2015, 15(6), 4119-4125.

## The Effect of Resistance Training and Nanocurcumin on Tumor Tissue Inflammatory Markers (NF- $\kappa$ B and IL-1 $\alpha$ ) in Rats with Glioblastoma Multiforme

Received: 03 Feb 2024

Accepted: 12 May 2024

Mehdi Begham<sup>1</sup>, Fatemeh Shabkhiz<sup>2\*</sup>, Hossein Shirvani<sup>3</sup>, Mosa Khalafi<sup>4</sup>

1. PhD Student of Exercise Physiology, Aras International Campus, University of Tehran, Tehran, Iran 2. Associate Professor, Exercise Physiology Department, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran 3. Associate Professor of Exercise Physiology, Exercise Physiology Research Center, Lifestyle Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran 4. Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Sports Sciences, Faculty of Humanities, University of Kashan, Kashan, Iran

### Abstract

**Introduction:** The aim of this study was to investigate the effect of resistance training and nanocurcumin supplementation on protein amounts of NF- $\kappa$ B and IL-1 $\alpha$  involved in tumor metabolism in rats with glioblastoma multiforme (GBM).

**Materials and Methods:** 30 male Wistar rats were divided into 5 groups namely, healthy control, GBM, GBM+resistance training (RT), GBM+nanocurcumin supplement (NCUR), and GBM+RT+NCUR. GBM was injected into the frontal cortex of rats. The training group performed incremental resistance training on the ladder for 4 weeks, 3 days per week. At the end, the rats were sacrificed and the histological changes of the brain tumor were evaluated by H&E method, and also the expression of NF- $\kappa$ B and IL-1 $\alpha$  protein were measured by western blot method.

**Results:** Compared to the healthy control group, the GBM group showed significant tissue changes (increasing tumor area) and increased IL-1 $\alpha$  protein levels ( $p \leq 0/05$ ). In the analysis of tissue changes, it was found that the GBM+RT, GBM+NCUR and GBM+RT+NCUR ( $p \leq 0/05$ ) groups showed a significant reduction in the brain tumor area compared to the GBM group. Also, the GBM+RT+NCUR group showed a significant decrease in tumor area compared to the GBM+RT and GBM+NCUR groups ( $p \leq 0/05$ ).

**Conclusion:** It seems that, to evaluate the changes of inflammatory markers involved in tumor metabolism, longer treatment duration, different dosage of supplements, different exercise training, intensity and volume of exercise training should be used. Also, the progress of the disease can be one of the factors affecting the non-change of the molecular factors of the present study.

**Keywords:** Tumor, Brain, Resistance training, Curcumin, Nano supplement

\*Corresponding Author: Associate Professor, Exercise Physiology Department, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran

Email: shabkhiz@ut.ac.ir

Tel: +989122125428

Fax: 02188021527