



تأثیر تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بر بیان ژن P53 بافت کبد و حجم تومور موش های مبتلا به سرطان ملانوما

حمیده طاولی: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
 حسین عابد نطنزی: گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران (*نویسنده مسئول) abednazari@gmail.com
 محمد علی آذر بایجانی: استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی تهران مرکزی، تهران، ایران
 علیرضا ایرانبخش: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم و فناوری های همگرا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرین هوازی،
 عصاره آناناس،
 سرطان ملانوما،
 کبد،
 P53

زمینه و هدف: سرطان ملانوما شدیدترین سرطان پوست است. اخیراً نقش تمرینات ورزشی در پیشگیری و درمان سرطان بسیار مورد توجه قرار دارد. آناناس میوه‌ای است که خواص ضد سرطانی آن مطرح شده است. P53 یک ژن مهار کننده تومور است. هدف پژوهش حاضر مطالعه تاثیر تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بر بیان ژن P53 بافت کبد و حجم تومور پس از انجام تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس در موش‌های سرطانی بود.

روش کار: این مطالعه بنیادی بر روی ۳۲ سر موش های نژاد C57 انجام شد. پس از کشت رده سلولی سرطان ملانوما القای تومور به موش ها صورت گرفت و پروتکل تمرین هوازی و گاوژ بر روی آن ها در چهار گروه شامل کنترل، تمرین هوازی، عصاره آناناس و تمرین هوازی- آناناس انجام شد. برنامه تمرین هوازی به مدت شش هفته انجام شد و عصاره آناناس به میزان ۳۰۰ میلی گرم/کیلوگرم گاوژ شد. وزن با ترازوی دیجیتال و حجم تومور موش ها با استفاده از کولیس اندازه گیری شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه گیری خونی و بافت کبد انجام شد، بیان ژن P53 بافت کبد به روش RT-PCR انجام گرفت. سپس داده ها با استفاده آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی مورد تجزیه تحلیل قرار گرفتند و سطح معنی داری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه کنترل، تمرین هوازی و تمرین - آناناس به کاهش معنی دار حجم تومور و افزایش بیان ژن P53 بافت کبدی منجر شد.

نتیجه گیری: ورزش هوازی و عصاره آناناس منجر به کاهش وزن و کاهش معنی دار حجم تومور و افزایش بیان ژن P53 سرکوب کننده تومور در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل در بافت کبد شد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Tavoli H, Abednatanzi H, Azarbajehani MA, Iranbakhsh A. The Effect of Aerobic Exercise and Pineapple Extract Consumption on Liver Tissue P53 Gene Expression and Tumor Volume in Mice with Melanoma Cancer. Razi J Med Sci. 2024;(14 Sep);31.107.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 4.0 صورت گرفته است.

The Effect of Aerobic Exercise and Pineapple Extract Consumption on Liver Tissue P53 Gene Expression and Tumor Volume in Mice with Melanoma Cancer

Hamide Tavoli: PhD Student of Exercise Physiology, department of Physical Education and Sport Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Hossein Abednatanzi: Department of Physical Education and Sport Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (* Corresponding Author) abednazari@gmail.com

Mohammad Ali Azarbajehani: Department of Exercise Physiology, Sport Medicine Research Center, Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran

Alireza Iranbakhsh: Department of Physical Education and Sport Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Melanoma is the most severe subset of skin cancer that has high invasive power and rapid metastasis to other organs. Recently, the role of exercise in the prevention and treatment of cancer has received much attention. Pineapple belongs to the bromeliaceae family and the subfamily Bromolyidae, which is one of the most popular tropical fruits, including protein, fat, sugars, calcium, phosphorus, iron, sodium, potassium, thiamine, riboflavin, niacin, enzyme, bromilinin. Organic free is vitamin C, vitamin A, B, whose anti-cancer properties have been proposed. P53 is a tumor-inhibiting gene that is more associated with cancer. The aim of this study was to study the changes in liver tissue p53 gene expression and tumor volume after aerobic exercise and pineapple extract consumption in mice with melanoma cancer.

Methods: This study was performed on 32 C57 mice (Weight: 12-14gr). After culture of melanoma cancer cell line, tumor induction was performed in mice and aerobic training and gavage protocols were performed on them in four groups including control, aerobic training, pineapple extract and aerobic-pineapple training. The aerobic exercise program was performed for six weeks with the treadmill. Familiarization protocol was performed at a speed of 6-10 meters per minute for two weeks. The continuous training program started at 14 meters per minute in the first two weeks and finally reached 16 meters per minute in the last two weeks. In order to eliminate the effect of stress on the studied variables, control mice were also placed on the treadmill for the duration of the exercise program for 20 minutes. Pineapple extract was gavage at 300 mg / kg. Weight was measured with a digital scale and tumor volume of mice using a caliper. 48 hours after the last training session, blood sampling and liver tissue were performed, expression of p53 gene of liver tissue was performed by RT-PCR. Then, the data were analyzed using one-way analysis of variance, two-factor analysis of variance and post hoc, and a significance level of $p \leq 0.05$ was considered. The above research has the code of ethics IR.IAU.SRB.REC.1399.178 in the Medical Ethics Committee of the Azad University, Science and Research Branch.

Results: The results showed that compared to the control group, aerobic exercise and pineapple exercise significantly reduced tumor volume and increased expression of hepatic p53 gene. Levels of variables including mice weight, tumor volume, P53 gene, mice as mean \pm standard deviation are reported. Results shows the results of two-factor analysis of variance and Bonferroni post hoc as well as the effect size of the groups.

Keywords

Aerobic exercise,
Pineapple,
Melanoma cancer,
Liver

Received: 27/04/2024

Published: 14/09/2024

Conclusion: The findings of the present study showed that aerobic exercise and pineapple extract resulted in weight loss and significant reduction in tumor volume and increased expression of p53 tumor suppressor gene in experimental groups compared to controls in liver tissue. The results showed that the weight of mice was lower in the experimental groups than in the control group, while in the training-pineapple group, the weight loss was higher. The results also showed that the tumor volume decreased in the experimental groups, which was significant in the pineapple and interactive exercise-pineapple groups, and in the exercise group, there was a non-significant decrease in the tumor volume of mice with melanoma cancer. With melanoma further reduced the size of the effect of pineapple extract. The results also showed that the changes in tumor volume between the exercise-pineapple and control groups showed a greater decrease than the other groups, which is significant, and in the other groups there is a significant decrease compared to the control group. These results indicate that different types of exercise can play an effective role in suppressing tumor growth. All of these findings emphasize the anti-inflammatory effects of exercise training in mice with cancer, which can also lead to a significant reduction in tumor volume. The results of the present study also showed that the expression of p53 tumor suppressor gene was significantly increased in the experimental groups, which was higher in the exercise and exercise-pineapple groups. The importance of autonomic functions of p53 tumor suppressor cancer cells (encoded by TP53) has been identified in many studies, but it is now clear that the status of p53 cancer cells also has a significant effect on the immune response. The most obvious result of the loss or mutation of p53 in mice and humans is the increased development of cancer. It is clear that the main function of p53 in humans is to protect against the progression of malignancy, but other functions of p53 are the ability to regulate immune responses and their role in the pathology of non-cancerous diseases, including wound healing, wound healing and wound healing or viral infection control. The mechanisms regulated by P53 also regulate mitochondrial respiration and help maintain genomic stability. Studies show that improving aerobic metabolism by P53, which acts as a tumor suppressor, may provide future cancer prevention strategies. Since herbal compounds have fewer side effects compared to chemical compounds, identifying new strategies for using medicinal plants as a suitable alternative to chemical drugs along with proper exercise can help cancer patients recover.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Tavoli H, Abednatanzi H, Azarbajani MA, Iranbakhsh A. The Effect of Aerobic Exercise and Pineapple Extract Consumption on Liver Tissue P53 Gene Expression and Tumor Volume in Mice with Melanoma Cancer. *Razi J Med Sci.* 2024;(14 Sep);31.107.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

***This work is published under CC BY-NC-SA 4.0 licence.**

مقدمه

سرطان عامل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان و کشورها با هر سطح درآمدی است. علاوه بر این، انتظار می‌رود که تعداد موارد سرطان و مرگ و میر با رشد جمعیت، پیر شدن و اتخاذ رفتارهای سبک زندگی که خطر ابتلا به سرطان را افزایش می‌دهد، به سرعت افزایش یابد (۱). ملانوما یک سرطان پوست است که در اثر بدخیمی ملانوسیت‌ها ایجاد می‌شود. بروز ملانوم در سراسر جهان به سرعت در حال افزایش است که منجر به مشکلات بهداشت عمومی می‌شود (۲). عوامل و پروتئین‌های مختلفی در سرطان نقش دارند که پروتئین سرکوبگر تومور یا p53 یکی از آنها است که نقش مهمی در سرکوب سرطان دارد (۳). این پروتئین فعالیت‌های سرکوب‌کننده تومور خود را عمدتاً با عمل به عنوان یک عامل رونویسی، فعال‌سازی بیش از دو‌سده ژن مختلف هدف، انجام می‌دهد. همچنین p53 به عنوان یک عامل مهم حاکم بر پاسخ‌های ایمنی ذاتی و سازگار، تولید مثل، رشد، تخریب عصبی و پیری شناخته شده است (۴). اخیراً با آشکار شدن نقش p53 در متابولیسم ممکن است برای عملکرد سرکوبگر تومور ضروری باشد (۵). یکی از مهم‌ترین مهارکننده‌های چرخه تکثیر سلولی، مولکول P53 می‌باشد که آن را محافظ ژنوم نامگذاری می‌کنند. این مولکول با ایجاد وقفه در مرحله G2 باعث مهار شدن چرخه سلولی می‌شود و با القای آپوپتوز از ایجاد تومور پیشگیری می‌نماید. تخریب DNA عامل اصلی فعالیت این مولکول می‌باشد (۶). با درک اینکه نقص در آپوپتوز می‌تواند در بروز بیماری‌هایی از قبیل سرطان ایفای نقش کند، علاقه به کنترل آپوپتوز در بین محققان رو به افزایش است و پیشرفت‌های اخیر در زمینه تشخیص‌های سلولی و مولکولی سبب شناسایی فاکتورهایی شده که در کاهش پیشرفت و سرعت سلول‌های سرطانی نقش دارند که پروتئین سرکوبگر تومور P53 یکی از آنها است (۷). ژن P53 چرخه سلولی و مسیرهای بازسازی DNA را به عنوان بخشی از عملکرد صریح و مهم آن در حفظ پایداری ژنوم تنظیم می‌کند. P53 در تنظیم چرخه سلولی، پیری، آپوپتوز و ثبات ژنوم فعال است. ژن p53 روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ قرار دارد و ایجاد اختلال و یا غیر فعال شدن پروتئین p53 منجر به

بروز سرطان می‌گردد و در پژوهشی نشان داده شد مسیرهای ژنتیکی که توسط p53 طی فعالیت‌های ورزشی تنظیم می‌شود ممکن است به تشریح مشاهدات اپیدمیولوژیک مرتبط با آمادگی قلبی تنفسی و سرطان کمک کند (۸). مطالعات نشان داد p53 می‌تواند در ژن‌هایی که در هماهنگ کردن دو مسیر اصلی تولید انرژی متابولیسم هوازی فعالیت می‌کنند دخالت نماید، اما اینکه چگونه این عمل برای حفظ پایداری ژنوم بوده، کمتر روشن است و نشان داده شده بهبود متابولیسم هوازی توسط p53 که به عنوان یک سرکوب‌کننده تومور عمل می‌کند، ممکن است راهبردهای پیشگیری از سرطان را ارائه دهد (۹).

از جمله علل اصلی بروز سرطان‌ها می‌توان به تأثیر عوامل محیطی در ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی مسئول بروز بدخیمی‌ها اشاره کرد و یکی از بافت‌هایی که در معرض بسیاری از عوامل ایجادکننده سرطان قرار دارد پوست می‌باشد. پوست در معرض عوامل متعددی از جمله دود، میکروارگانیسم‌ها و یا انواع اشعه‌ها مانند اشعه ماوراء بنفش و ... می‌باشد که می‌توانند باعث ایجاد پاسخ‌های بیولوژیکی شده و از طریق تولید گونه‌های اکسیژن فعال منجر به آسیب پوست شوند (۱۰).

در مقابل این عوامل، آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که به مهار بسیاری از واکنش‌های اکسیداسیون که توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند، کمک نموده و بدین وسیله آسیب وارده به سلول‌ها و بافت‌ها را مهار کرده یا به تأخیر می‌اندازند. از جمله مکانیسم‌های عملکردی آنها واکنش جمع‌آوری گونه‌های رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌باشد (۱۱). شواهد گسترده‌ای برای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در سرطان وجود دارد (۱۲). ارزش پتانسیلی آنتی‌اکسیدان‌ها، محققان را بر آن داشته تا به جستجوی ترکیب‌های طبیعی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و سمیت کم بپردازند. مطالعات اخیر نشان داده که تعدادی از محصولات گیاهی شامل: پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، کورکومین‌ها، ترپن‌ها و انواع عصاره‌های گیاهی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند. همچنین نشان داده شده که یک

جدید برای درمان سرطان به عنوان روش های درمانی هدفمند سرطان وجود دارد که بتواند جایگزین خوبی برای روش های شیمی درمانی فعلی باشد (۱۹). لذا، در این مطالعه محقق به دنبال پاسخ به این سوال بوده که آیا تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بر بیان ژن P53 بافت کبد و حجم تومور موش های مبتلا به سرطان ملانوما تاثیر دارد؟ شاید بتوان از اثر بخشی و نقش آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آناناس در کنار طراحی برنامه ورزشی برای سرطانی ها استفاده کرد. امید است نتایج حاصل از این پژوهش در علوم پزشکی و ورزشی پس از مطالعات انسانی مشابه به عنوان راهی نجات بخش در بهبود عوارض ناشی از سرطان عوارض آن و آسیب های کبدی مورد استفاده قرار گیرد.

روش کار

این مطالعه از نوع مطالعات بنیادی بود که به روش تجربی آزمایشگاهی انجام شد. جامعه آماری پژوهش حاضر را موش های نر C57BL/6 تشکیل می دادند که از بین آن ها، ۳۲ سر موش نر شش تا هشت هفته ای با دامنه وزنی ۱۲ تا ۱۴ گرم به عنوان نمونه آماری از انستیتو پاستور خریداری و به اتاق نگهداری حیوانات آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله تهران منتقل شدند. نگهداری موش ها در قفس های پلی کربنات مخصوص و تعداد چهار سر موش در هر قفس صورت گرفت. به منظور آشنایی با محیط جدید، موش ها به مدت یک هفته در آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از آشناسازی، موش ها به صورت تصادفی و با توجه به همگن سازی وزن به چهار گروه تقسیم شدند. پس از یک هفته آشناسازی با محیط، سلول های سرطانی به موش ها تزریق شد. رده سلول سرطانی ملانوما B16F10 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد. برای کشت این رده سلولی، از محیط کشت RPMI غنی شده با ۱۰٪ FBS همراه با آنتی بیوتیک پنی سیلین استرپتومایسین استفاده شد. در ابتدا به منظور استخراج بافت توموری از موش های استوک، با روش نخاعی موش ها کشته شدند. سپس ناحیه توموری با الکل استریل شد و با کمک پنس و قیچی تومور از

سری از ترکیبات طبیعی از جمله گیاهان باعث القاء مسیره های آپوپتوزی می شوند که در سلول های سرطان مهار شده اند.

فرآورده های طبیعی به ویژه گیاهان دارای پتانسیل بالایی برای ساخت ترکیبات دارویی می باشند (۱۳). آناناس با نام علمی *comosus Ananas* و نام انگلیسی *pineapple* متعلق به خانواده برومولیاسه وزیر خانواده برومولوئیده می باشد. این میوه یکی از پرطرفدارترین میوه های استوایی است (۱۴). از نظر ترکیبات شیمیایی در هر صد گرم قسمت قابل مصرف میوه رسیده و خام به صورت متوسط: ۸۵ گرم آب، ۰٫۴ گرم پروتئین، ۰٫۲ گرم چربی، ۱۳ گرم مواد قندی، ۱۷ میلی گرم کلسیم، ۸ میلی گرم فسفر، ۰٫۵ میلی گرم آهن، ۱ میلی گرم سدیم، ۱۴۶ میلی گرم پتاسیم، ۰٫۰۹ میلی گرم تیامین، ۰٫۰۳ میلی گرم ربیوفلاوین، ۰٫۲ میلی گرم نیاسین، آنزیم برومیلین، وانیلین، اسیدهای آزاد آلی، ۱۷ میلی گرم ویتامین C، ۷۰ واحد بین المللی ویتامین A، B و B2 وجود دارد. آنزیم برومیلین به دست آمده از عصاره آناناس به صورت گسترده در طب سنتی استفاده می شود. این ماده علاوه بر این موارد، دارای فعالیت هایی نظیر تنظیم کننده سیستم ایمنی، اثرات ضد التهابی و اثرات ضد سرطانی است (۱۵). رئیسی و همکاران اثرات ضد سرطانی آناناس را بر سرطان پستان بررسی نموده و به نتایج ارزشمندی در راستای نابودی این سلول ها دست یافتند (۱۶).

درمان های مختلفی که امروزه برای سرطان وجود دارد مثل پرتودرمانی و یا سایر داروهای رایج، همگی برای سلول های سالم بدن نیز سمی هستند و علاوه بر هزینه های بالا عوارض جانبی بالایی دارند. لذا، با توجه به قابلیت های برومیلین و تعداد اندک مطالعات انجام شده پیرامون سلول های سرطانی، هنوز مطالعات بیشتری لازم است تا بتوان قابلیت های این ترکیب را بررسی کرد. از اصلی ترین مشکلاتی که در درمان سرطان وجود دارد این است که داروهای درمانی در بافت های توموری باقی نمی مانند و داروهای بافت های سالم بدن را نیز تحت تاثیر قرار می دهند (۱۷ و ۱۸). بنابراین احساس می شود که نیاز مبرمی به روش های

سرطانی قابل لمس و مشاهده بود، پروتکل پژوهشی آغاز شد. موش‌ها به صورت تصادفی و به تعداد هشت سر موش در هر گروه قرار گرفتند. گروه‌ها شامل گروه کنترل، تمرین، عصاره آناناس و گروه تمرین - آناناس بود.

پروتکل تمرینی: برنامه تمرین هوازی در پژوهش حاضر، شامل شش هفته دوییدن روی نوارگردان بود که به سه قسمت دو هفته‌ای تقسیم می‌شد. دو هفته اول مرحله آشناسازی با نوارگردان بود که موش‌ها با سرعت ۶ تا ۸ متر بر دقیقه که به تدریج افزایش می‌یافت، به مدت دو هفته هر هفته ۵ روز و هر روز یک جلسه برای ۲۰ دقیقه تمرین می‌کردند. در ادامه دو هفته بعد با افزایش توانایی موش‌ها برنامه تمرین تداومی ابتدا با سرعت ۱۰ و سپس با ۱۲ متر در دقیقه برای مدت ۲۵ دقیقه در هر جلسه انجام شد و در نهایت در دو هفته آخر سرعت به ۱۴ و سپس به ۱۶ متر در دقیقه رسید و هر جلسه ۳۰ دقیقه موش‌ها تمرین می‌کردند. برنامه تمرین تداومی به صورت کامل در جدول ۱ نشان داده شده است. به منظور از بین بردن تاثیر استرس نوارگردان بر متغیرهای مورد بررسی، موش‌های گروه کنترل نیز به اندازه مدت زمان برنامه تمرین ورزشی (بین ۲۰ تا ۳۰ دقیقه) روی نوارگردان خاموش قرار داده می‌شدند (۲۰).

عصاره گیری و گاوژ آناناس: برای تهیه عصاره از میوه آناناس ابتدا میوه آناناس تهیه شده و پس از شسته شدن به حلقه‌های نازک برش زده شد و در مکان سایه روشن به دور از آلودگی خشک شد. سپس از میوه خشک شده، پودر یکنواخت تهیه می‌گردد. جهت عصاره گیری میوه آناناس از روش خیساندن در دمای ۴ درجه سانتی گراد استفاده شد. به ازای هر ۷ گرم پودر

پهلوی موش خارج و به یک پلیت حاوی محلول سرم فیزیولوژی استریل منتقل گردید. بافت توموری حاصله با یک تیغ بیستوری به قطعات ۲-۳ میلی متری تقسیم شد. در حین قطعه کردن بافت توموری چربی‌ها و عروق اضافه از تومور جدا سازی شده و بافت توموری به صورت خالص قطعه قطعه شد. قطعات توموری به یک پلیت استریل حاوی سرم فیزیولوژی منتقل شدند تا برای جراحی مورد استفاده قرار بگیرند. برای شروع جراحی ابتدا موش‌ها با مخلوط داروی زایلین و کتامین به نسبت ۱ به ۲ همراه با محلول سرم فیزیولوژی استریل مورد بیهوشی قرار گرفتند (مقدار داروها برای بیهوشی ۵ سر موش شامل ۴۰ میکرولیتر زایلین و ۸۰ میکرولیتر کتامین همراه با ۳۸۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی استریل بود که از این ترکیب مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به هر موش به صورت صفاقی تزریق شد). پس از بیهوشی کامل، موش‌ها از ناحیه پهلو بر روی تخته جراحی قرار گرفتند و با کمک پنس و قیچی استریل در ناحیه پهلوی شیو شده یک برش کوچک ایجاد شد، سپس با کمک پنس کانال باریکی در زیر پوست ایجاد شد. در مرحله بعدی به قطعه از بافت توموری استخراج شده از موش استوک به انتهای کانال ایجاد شده در زیر پوست موش منتقل شد و محل برش پوست به کمک چسب و منگنه مخصوص بخیه مسدود شد. پس از جراحی به منظور ریکاوری، موش‌ها در یک قفس جداگانه و در یک اتاق با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. محل بخیه جراحی با بتادین ضد عفونی گردید. همچنین موش‌ها به صورت هفتگی جهت بررسی روند رشد تومور مورد معاینه قرار می‌گرفتند (۱۹). یک هفته پس از تزریق سلول‌های سرطانی که بافت تومور در جایگاه تزریق سلول‌های

جدول ۱- برنامه تمرین هوازی چهار هفته‌ای

دوره تمرین	متغیرهای تمرین	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)	تکرار (روز در هفته)
هفته اول و دوم (آشناسازی)	۶-۸	۲۰	۵	
هفته سوم و چهارم	۱۰-۱۲	۲۵	۵	
هفته پنجم و ششم	۱۴-۱۶	۳۰	۵	

وزن موش و حجم تومور انجام گرفت. بافت کبد نیز به منظور اندازه گیری بیان ژن جدا و بلافاصله توسط ازت مایع به فریزر منفی ۸۰ منتقل شد. مقداری از بافت کبد برای انجام مراحل ریل تایم درون RNA later قرار داده شد و سپس در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در مرحله بعد RNA با استفاده از کیت RiboEx Total RNA isolation solution (GeneAll) استخراج شد و در نهایت بررسی کمی و کیفی آن با استفاده از دستگاه نانودارپ و ژل آگارز یک درصد انجام شد. پس از اطمینان از خلوص و کیفیت RNA استخراج شده، cDNA با استفاده از کیت FIRE Script RT cDNA Synthesis (Solis BioDyne) ساخته شد و به فریزر منفی ۲۰ انتقال داده شد. سپس برای بررسی بیان ژن P53، پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش توسط نرم افزار Primer3 طراحی شد و توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

بیان ژن P53 در حجم ۲۰ میکرولیتر صورت گرفت به این ترتیب که ۱۰ میکرولیتر Master Mix (AMPLIQON RealQ Plus 2x Master Mix Green) در ویال ریخته شد و سپس ۲ میکرولیتر پرایمر که شامل ۱ میکرولیتر پرایمر پیشرو و ۱ میکرولیتر پرایمر پیرو بود، به ویال اضافه شد. در ادامه ۲ میکرو لیتر از cDNA ساخته شده به ویال اضافه گردید و در نهایت به آن ۶ میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد تا حجم مواد به ۲۰ میکرولیتر برسد. سپس نمونه ها در دستگاه Rotor-Gene Q real-time PCR cycler (QIAGEN)

آناناس، ۵۰ میلی لیتر اتانول ۸۵٪ استفاده شد. عصاره حاصله در بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شده تا حلال به طور کامل تبخیر شد. عصاره خشک به دست آمده تا زمان استفاده، درون یخچال نگهداری شد. به طور خلاصه پس از توزین میوه آناناس، پوست آن جدا، پارانیشیم آن خارج شده و با استفاده از دستگاه مخلوط کن، مخلوط یکنواخت و همگنی تهیه نموده، پس از سانتریفوژ مخلوط با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، فیبره را در قسمت پایینی و عصاره در قسمت بالایی لوله قرار می گیرد. این عصاره با آب مقطر رقیق شده و عصاره ۲۰ درصد مورد استفاده قرار خواهد گرفت. نرمال سالین و عصاره آناناس (۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در وزن بدن) به وسیله گاواژ به موش های مورد نظر خورانده شد (۲۱).

اندازه گیری وزن موش ها و حجم تومور موش ها:

جهت اندازه گیری وزن موش ها، همه حیوانات در ابتدا و به صورت هفتگی با استفاده از ترازوی دیجیتالی مخصوص وزن می شدند. حجم تومور نیز در دو بعد اندازه گیری می شد. بزرگ ترین بعد تومور به عنوان طول (L) تومور در نظر گرفته شد و بعد دیگر (در زاویه ۹۰ درجه) به عنوان عرض (W) در نظر گرفته شد. پس از پیدایش تومور، هر هفته یک بار طول و عرض تومور توسط کولیس دیجیتالی اندازه گیری گردید و با استفاده از فرمول محاسباتی حجم تومور $[V=\pi/6 (w \times L^2)]$ میزان آن تعیین شد (۲۲).

در انتهای پروتکل های برنامه تمرینی و عصاره دهی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، خونگیری، بافت برداری و اندازه گیری

جدول ۲- الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Gen	Primer	Product size
p53-F	CCCAGGGAGTGCAAAGAGA	133
p53-R	CAGCTCTCGGAACATCTCGA	

جدول ۳- مراحل دمایی ریل تایم بیان ژن P53

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

آماري بيان ژن P53 با استفاده از نرم افزار SPSS22 انجام شد. سطح معنی داری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطوح متغیرهای مورد بررسی شامل وزن موش‌ها، حجم تومور، بیان ژن P53، موش‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار در جدول ۴ و نمودار ۱ و ۲ گزارش شده است. نمودار ۱ و ۲ نیز تغییرات حجم تومور و بیان ژن P53 بافت کبد موش‌های گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. تحلیل استنباطی یافته‌ها نیز در جدول ۵ آورده شده است.

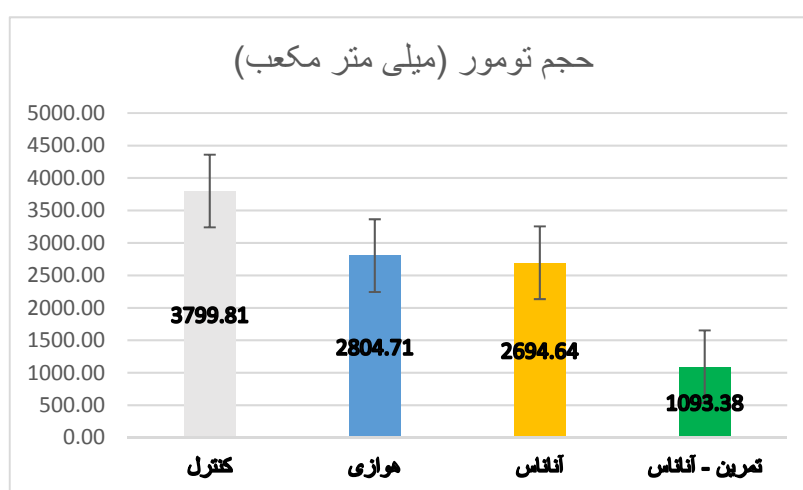
نتایج توصیفی طبق جدول ۴ و نمودار ۱ نشان می‌دهد حجم تومور در گروه‌های تجربی کاهش معنی‌دار داشت. میزان حجم تومور نسبت به گروه کنترل در گروه‌های تجربی کاهش داشته که در گروه آناناس و تمرین - آناناس میزان کاهش بیشتر است. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی نیز بر طبق جدول ۵ نشان

طبق برنامه مورد نظر که شامل یک مرحله Enzyme Activation به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۴۰ سیکل شامل Denaturation به مدت ۱۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، Annealing-Extention به مدت ۳۰ ثانیه بر روی تنظیم و اجرا شد (جدول ۳). در نهایت محصولات PCR به منظور بررسی اختصاصیت بر روی ژل آگاروز ۱ درصد بررسی شد.

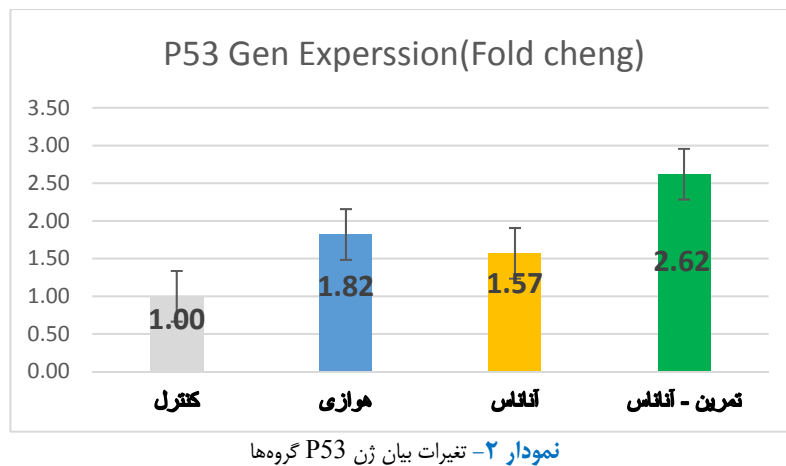
داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS22 تجزیه و تحلیل شدند. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. آزمون شاپیرو ویلک جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و آزمون لوین برای تجانس واریانس‌ها و از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بن فرونی جهت مقایسه تفاوت بین گروه‌ها و از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و شاخص تعیین اندازه اثر جهت مقایسه میزان تاثیر هر یک از متغیرهای مستقل استفاده گردید. آنالیز

جدول ۴- جدول توصیفی سطوح متغیرهای مورد بررسی در گروه‌های پژوهش (انحراف معیار \pm میانگین)

گروه	وزن موش‌ها (گرم)	حجم تومور (میلی متر مکعب)	بیان ژن P53 (Fold change)
کنترل	۸,۱۵ \pm ۱,۰۹	۳۷۹۹,۸۱ \pm ۸۸۲,۴۴	۱ \pm ۰
تمرین هوازی	۱۵ \pm ۱,۸۷	۲۸۰۴,۷۱ \pm ۷۹۹,۷۹	۱,۸۲ \pm ۰,۸۷
آناناس	۱۴,۵ \pm ۱,۲۹	۲۶۹۴,۶۴ \pm ۷۳۹,۲۲	۱,۵۷ \pm ۰,۷۱
تمرین - آناناس	۱۴,۸ \pm ۱,۴۸	۱۰۹۳,۳۸ \pm ۷۷۴,۱۳	۲,۶۲ \pm ۱,۶۲



نمودار ۱- تغییرات حجم تومور گروه‌ها



جدول ۵- نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تقییبی بنفرونی و نیز اندازه اثر گروه‌ها

Effect.Size	Sig.	F	Group	Group	متغیر/شاخص آماری
۰,۸۶	۰,۰۰۵	۱۰,۸۲	هوازی	کنترل	حجم تومور (میلی متر مکعب)
۰,۹۶	۰,۰۰۳	۱۲,۷۳	آناناس		
۰,۱۱	۰,۴۵۴	۰,۵۹	هوازی + آناناس		
۰,۱۹	۰,۰۷	۳,۶۴	هوازی	کنترل	بیان ژن P53 (Fold change)
۰,۱۱	۰,۱۹	۱,۸۵	آناناس		
۰,۰۰۷	۰,۷۵	۰,۰۹	هوازی + آناناس		

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی و عصاره آناناس منجر به کاهش وزن و کاهش معنی دار حجم تومور و افزایش بیان ژن سرکوبگر تومور P53 در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل در بافت کبدی شد. نتایج وزن موش‌ها نشان داد که وزن موش‌ها در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل کاهش داشت که در گروه تمرین - آناناس میزان کاهش وزن بیشتر بود. همچنین نتایج نشان داد حجم تومور در گروه‌های تجربی کاهش داشته که در گروه آناناس و تعاملی تمرین - آناناس معنی دار و در گروه تمرین کاهش غیر معنی داری در حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما ایجاد شد، ولی تمرین - عصاره آناناس حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما را بیشتر کاهش داد که شاخص اندازه اثر عصاره آناناس بیشتر بود. نتایج همچنین نشان داد تغییرات حجم تومور در بین گروه تمرین - آناناس و کنترل نسبت به گروه‌های

می‌دهد کاهش حجم تومور در گروه‌های تجربی در گروه آناناس و تعاملی تمرین - آناناس معنی دار و در گروه تمرین کاهش غیر معنی داری در حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما ایجاد شد، ولی تمرین - عصاره آناناس حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما را بیشتر کاهش داد که شاخص اندازه اثر عصاره آناناس بیشتر بود.

همچنین یافته‌ها نشان می‌دهد طبق جدول ۴ و نمودار ۲ بیان ژن P53 نسبت به گروه کنترل در گروه‌های تجربی افزایش داشته که در گروه تعاملی تمرین - آناناس و تمرین هوازی بیشتر است. اطلاعات جدول ۵ از نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی نیز نشان می‌دهد افزایش بیان ژن P53 در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل معنی دار نیست، ولی در گروه تمرین - آناناس بیان ژن P53 موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما افزایش بیشتری نشان داد، ولی شاخص اندازه اثر گروه تعاملی تمرین - آناناس و آناناس بیشتر بود.

توجه به رشد تومور امکان ادامه کار وجود نداشت که نشان می‌دهد حتی دوره کوتاه مدت تمرین ورزشی نیز می‌تواند منجر به کند شدن روند رشد تومور شود.

نتایج پژوهش حاضر همچنین نشان داد بیان ژن سرکوبگر تومور P53 در گروه‌های تجربی افزایش غیرمعنی دار داشت که در گروه تمرین و تمرین-آناناس بیشتر بود.

اهمیت عملکردهای خودمختار سلول‌های سرطانی سرکوبگر تومور p53 (رمزگذاری شده توسط TP53) در بسیاری از مطالعات مشخص شده است، اما اکنون مشخص شده است که وضعیت p53 سلول‌های سرطانی نیز تأثیر بسزایی در پاسخ ایمنی دارد. از دست دادن یا جهش p53 در سرطان‌ها می‌تواند بر جذب و فعالیت سلول‌های میلوئیدی و T تأثیر بگذارد، سیستم ایمنی بدن را تضعیف و پیشرفت سرطان را افزایش می‌دهد. P53 همچنین می‌تواند در سلول‌های ایمنی نقش داشته باشد، در نتیجه می‌تواند از رشد تومور جلوگیری کند.

درک نقش p53 در تومور و سلول‌های ایمنی به توسعه روش‌های درمانی کمک می‌کند تا بتوانند وضعیت پیشرفت سرطان را در مقایسه با اکثر بافت‌های طبیعی کنترل کنند. شایع‌ترین ضایعه ژنتیکی در سرطان انسان از بین رفتن یا جهش ژن مهارکننده تومور TP53 است و جهش ژنتیکی TP53 منجر به افزایش شدید خطر ابتلا به سرطان می‌شود. P53 در پاسخ به استرس فعال می‌شود و می‌تواند باعث از بین رفتن دائمی سلول‌های سرطانی نوپا از طریق القا اشکال مختلف مرگ سلولی یا پیری شده و توسعه تومور را کاهش دهد. در واقع، سلول‌های تومور فاقد p53 می‌توانند بی‌ثباتی ژنومی و سیگنالینگ سرطان‌زا را که از ویژگی‌های بدخیم هستند، تحمل کنند. جهش P53 همچنین می‌تواند باعث توقف چرخه سلولی برگشت پذیر شود، به سلول‌های تومور اجازه می‌دهد که پس از برطرف شدن آسیب یا استرس، تکثیر را از سر بگیرند. از دست دادن عملکرد p53 در سلول‌های توموری می‌تواند این سلول‌ها را در برابر انواع خاصی از استرس متابولیکی آسیب‌پذیرتر کند. بسیاری از سرطان‌ها

دیگر کاهش بیشتری نشان می‌دهد که معنی دار است و در بقیه گروه‌ها نیز نسبت به کنترل کاهش غیرمعنی دار مشاهده می‌شود. امانی تأثیر تمرینات ورزشی بر سطوح عوامل التهابی در موش‌های توموری را مطالعه کردند و بیان کردند شش هفته تمرین استقامتی روی نوارگردان منجر به کاهش معنادار سطوح IL-6 و VEGF در بافت تومور موش‌های حامل تومور پستان شد (۲۰). باکورا و همکاران در رابطه با اثرگذاری مثبت تمرینات با شدت بالا در کاهش حجم تومور نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین شدید روی نوارگردان (پنج جلسه در هفته، ۳۰ دقیقه، ۸۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) منجر به کاهش معنادار حجم تومور در موش‌های حامل تومور می‌شود. علاوه بر این، تمرینات ورزشی با افزایش معنادار بقا در مقایسه با گروه کنترل تومور همراه بود. این نتایج نشان می‌دهد که انواع مختلف تمرینات ورزشی می‌تواند نقش موثری در سرکوب رشد تومور داشته باشد (۲۳). همه این یافته‌ها بر اثرات ضدالتهابی تمرینات ورزشی در موش‌های مبتلا به سرطان تأکید دارد که می‌تواند به کاهش معنادار حجم تومور نیز منجر شود. مورفی کاهش معنی دار حجم تومور را به دنبال تمرینات هوایی در موش‌های سرطانی به افت عوامل التهابی نسبت دادند؛ گفته می‌شود که این کاهش التهاب، احتمالاً در اثر کاهش رهایش سایتوکاین‌ها از قبیل IL-6 در پاسخ به انقباض عضلانی منظم است (۲۴). یافته‌های پژوهش حاضر موافق با یافته‌های مورفی بود و در هر دو پژوهش کاهش حجم تومور بعد از یک دوره تمرین استقامتی مشاهده شد و احتمالاً اگر طول مدت تمرین در پژوهش حاضر با مداخلات تغذیه‌ای همراه ادامه می‌یافت، کاهش حجم تومور در گروه تمرین نیز شاید معنی دار می‌شد، اما در گروه آناناس کاهش معنی دار بوده و تأثیر بیشتری بر حجم تومور داشته که تأثیر خود را در گروه تعاملی تمرین-آناناس نشان داده و حجم تومور را نسبت به تمرین بیشتر کاهش داده است. البته تومور مورد بررسی در پژوهش حاضر متفاوت از پژوهش‌های فوق بود و مدت زمان دوره تمرین در پژوهش حاضر (چهار هفته) به خاطر نوع سرطان و رده سلولی آن که بسیار تهاجمی بود و با

پروتئولیتیک محسوب می شود. پژوهش این محقق نشان دهنده بازداری واضح برومیلین از تکثیر سلولی است (۲۶). همچنین قابل ذکر است طبق تحقیقاتی که بای و همکاران روی خاصیت سایتوتوکسیک آناناس در القای آپوپتوز در سلول های سرطان سینه انجام شد، مشخص شد که سلول های سرطانی MCF-7 که تحت تیمار با برومیلین به دست آمده از میوه آناناس بودند، پاسخ مهارتی تاخیر رشد القای اتوفازی را نشان دادند که این مسئله به علت نقش برومیلین بر تنظیم فسفریلاسیون خارج سلولی است (۲۷). از آنجا که ترکیبات گیاهی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی عوارض جانبی کمتری دارند، لذا شناسایی راهبرد های جدید برای استفاده از گیاهان دارویی به عنوان جایگزین مناسبی به جای داروهای شیمیایی باشد و در کنار فعالیت ورزشی مناسب می تواند کمک شایانی به بهبود بیماران سرطانی کند.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج پژوهش حاضر حاکی از این است که تمرین هوازی می تواند روی کاهش حجم تومور و افزایش بیان ژن P53 موثر باشد و با توجه به اینکه این مطالعه اولین مطالعه انجام شده بر روی تاثیر تعاملی تمرین هوازی و عصاره آناناس بر روی این رده سلولی سرطانی ملانوما بود و با توجه به تهاجمی بودن این نوع رده سلولی ادامه فعالیت و مداخله با توجه به افزایش حجم تومور ها بسیار مشکل بود، ادامه و تکمیل مطالعه و تکرار آن با مداخلات تمرینی با حجم و شدت تمرینی مختلف و مداخلات دیگر تغذیه ای موثر برای دریافت اطلاعات و راهبرد های بیشتر ضروری و مفید به نظر می رسد.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکتری مصوب ۱۳۹۹/۰۵/۱۷ گروه تربیت بدنی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران می باشد. لذا، از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می شود.

بیانگر سطح بالایی از نسخه های جهش یافته p53 هستند که به طور کلی توانایی جلوگیری از رشد سلول را از دست می دهند، اما در برخی موارد توابع بقا را حفظ کرده و فعالیت تومور زایی را به دست می آورد. به طور کلی، فعالیت های بی شماری که برای p53 شرح داده شده است، توانایی تنظیم انواع متنوعی از مسیرهای بیولوژیکی را نشان می دهد. مطالعات حاکی از آن است که این عملکرد های p53 فقط برای تومور تکامل نمی یابد. نقش p53 در تکامل، حفظ سلول های بنیادی و هموستاز بافتی و محافظت از یکپارچگی سلول های زایا توصیف شده است؛ در حالی که p53 همچنین می تواند به آسیب های غیر سرطانی مانند بیماری تخریب عصبی و ایسکمی کمک کند. با این وجود، بارزترین نتیجه از دست دادن یا جهش p53 در موش و انسان باعث افزایش توسعه سرطان است. روشن است که عملکرد اصلی p53 در انسان محافظت در برابر پیشرفت بدخیمی است، اما سایر اعمال p53، توانایی تنظیم پاسخ های ایمنی و نقش آن ها در آسیب شناسی بیماری های غیرسرطانی، از جمله ترمیم زخم، ترمیم آسیب و برطرف شدن آسیب یا کنترل عفونت و پروسی است (۲۵). همچنین مکانیسم هایی که توسط P53 تنظیم می شود تنفس میتوکندریایی را تنظیم می کند و نیز به حفظ ثبات ژنومی کمک می کند. مطالعات نشان می دهد بهبود متابولیسم هوازی توسط P53 که به عنوان یک سرکوب کننده تومور عمل می کند، ممکن است راهبردهای پیشگیری از سرطان در آینده را ارائه دهد (۹).

ملانوما تومور بدخیمی است که از تغییر شکل و تکثیر ملانوسیت ها که به طور طبیعی در لایه سلولی پایه اپیدرمیس قرار دارند، ایجاد می شود. از سوی دیگر بررسی ترکیبات موجود در عصاره های گیاهی و تایید اثرات ضدسرطانی ها آن محققان را بر آن داشته تا توجه ویژه به این ترکیبات در جهت درمان گروه های متفاوت سرطانی داشته باشند. طبق تحقیقاتی که مایکل و همکاران روی خواص آنتی اکسیدانی آناناس بر روی ملانوما انجام دادند، مشخص شد که برومیلین جزء اصلی فعال در میوه آناناس بوده و از دسته آنزیم های

8. Yusoff MSB, Pa MNM, Rahim AFA. [Mental health of medical students before and during medical education: A prospective study]. Journal of Taibah University Medical Sciences 2013; 8(2): 86-92. DOI:10.1016/j.jtumed.2013.03.004

9. Lago CU, Sung HJ, Ma W, Wang PY, Hwang PM. [p53, aerobic metabolism, and cancer]. Antioxid Redox Signal. 2011;15(6):1739-1748. doi:10.1089/ars.2010.3650

10. Giampieri F, Alvarez-Suarez JM, Mazzoni L, et al. [Polyphenol-rich strawberry extract protects human dermal fibroblasts against hydrogen peroxide oxidative damage and improves mitochondrial functionality]. Molecules. 2014; 19(6):7798-7816. Published 2014 Jun 11. Doi: 10.3390/molecules19067798.

11. Nikkhah E, Khayami M, Heidari M. [Evaluation of Nitric Oxide Scavenging Activity of Anthocyanins from Black Berry (Morus Nigra L.), Strawberry (Fragaria Vesca L.) and Berry)Morus Alba L. Var. Nigra) Extracts]. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2009; 25(1): 120-8. (Persian)

12. Michael A, Hedayati B, Dalgleish AG. [Disease regression in malignant melanoma: spontaneous resolution or a result of treatment with antioxidants, green tea, and pineapple cores? A case report]. Integr Cancer Ther. 2007; 6(1):77-79. Doi: 10.1177/1534735406298897

13. Roussis IG, Lambropoulos I, Soutli K. [Scavenging Capacities of Some Wines and Wine Phenolic Extracts]. Food Technology and Biotechnology 2005; 43(4): 351-8. <https://hrcaak.srce.hr/110571>.

14. Septembre-Malaterre A, Stanislas G, Douraguia E, Gonthier M-P. [Evaluation of Nutritional and Antioxidant Properties of the Tropical Fruits Banana, Litchi, Mango, Papaya, Passion Fruit and Pineapple Cultivated in Réunion French Island]. Food chem 2016; 212: 225-33.

15. Tysnes BB, Maurert HR, Porwol T, Probst B, Bjerkgvig R, Hoover F. [Bromelain Reversibly Inhibits Invasive Properties of Glioma Cells]. Neoplasia 2001; 3(6): 469-79.

16. Raeisi F, Raeisi E, Shahbazi-Gahrouei D, Heidarian , Amiri M, Gholami M. [Cytotoxicity Effect of Pineapple Extract on Breast Cancer Cells (4T1)]. J Isfahan Med Sch 2016; 34(394): 946-51. (Persian)

17. Sinha R, Kim GJ, Nie S, Shin DM. [Nanotechnology in Cancer Therapeutics: Bioconjugated Nanoparticles for Drug Delivery]. Mol Cancer Ther 2006; 5(8): 1909-17.

18. Castano AP, Mroz P, Hamblin MR. [Photodynamic Therapy And Anti-Tumour Immunity]. Nat Rev Cancer 2006; 6(7): 535-45. 14-

ملاحظات اخلاقی

اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در تمام مراحل اجرای پروتکل ها به منظور کمتر آسیب دیدن حیوانات با نظارت و دخالت مستقیم استاد راهنما انجام شد. این پژوهش با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1399.178 در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تأیید شد.

مشارکت نویسندگان

نویسنده اول ۳۰ درصد و نویسنده دوم و مسئول مقاله ۴۰ درصد و نویسنده سوم ۲۰ درصد و نویسنده چهارم ۱۰ درصد بود.

References

1. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. [Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2016;25(1):16-27. doi:10.1158/1055-9965.EPI-15-0578
2. Ahmed B, Qadir MI, Ghafoor S. [Malignant Melanoma: Skin Cancer-Diagnosis, Prevention, and Treatment]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2020;30(4):291-297. doi:10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2020028454
3. Levine AJ, Oren M. [The first 30 years of p53: growing ever more complex]. Nat Rev Cancer. 2009;9(10):749-758. doi:10.1038/nrc2723
4. Chang JR, Ghafouri M, Mukerjee R, Bagashev A, Chabrashvili T, Sawaya BE. [Role of p53 in neurodegenerative diseases]. Neurodegener Dis. 2012;9(2):68-80. doi:10.1159/000329999
5. Li T, Kon N, Jiang L, et al. [Tumor suppression in the absence of p53-mediated cell-cycle arrest, apoptosis, and senescence. Cell]. 2012;149(6):1269-1283. doi:10.1016/j.cell.2012.04.026.
6. Höpker K, Hagemann H, Khurshid S, Chen S, Schermer B, Benzing T, Reinhardt HC. [Putting the brakes on p53-driven apoptosis]. Cell Cycle. 2012 Nov 15;11(22):4122-8. doi: 10.4161/cc.21997. Epub 2012 Sep 14. PMID: 22983126; PMCID: PMC3524207.
7. Borst JM, Frings-Dresen MH, Sluiter JK. [Prevalence and incidence of mental health problems among Dutch medical students and the study-related and personal risk factors: a longitudinal study]. Int J Adolesc Med Health. 2016;28(4):349-355. doi:10.1515/ijamh-2015-0021

Brannon-Peppas L, Blanchette JO. Nanoparticle and Targeted Systems for Cancer Therapy. *Advanced drug delivery reviews* 2012; 64(supplement): 206-212

19. Khori V, Amani Shalamzari S, Isanejad A, et al. [Effects of exercise training together with tamoxifen in reducing mammary tumor burden in mice]: Possible underlying pathway of miR- Eur J Pharmacol. 2015; 765:179-187. doi:10.1016/j.ejphar.2015.08.031. (Persian)

20- Amani-Shalamzari S, Aghaalienejad H, Alizadeh S, Kazmi A, Saei M A, Minayi N et al . [The effect of endurance training on the level of tissue IL-6 and VEGF in mice with breast cancer]. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2014; 16 (2):10-21.URL: <http://78.39.35.44/article-1-1586-fa.html>. (Persian).

21- Gholamian R, Nikoonahad Lotfabadi N, Haghiralssadat B F. [Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Effects of Liposomes Containing Pineapple Fruit Extract on Melanoma Skin Cancer (A375 Cell Line)]. *JSSU.* 2020; 28 (2):2411-2424.URL: <http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-4960-fa.html>. (Persian)

22. Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, et al. [Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer] [published correction appears in *J Appl Physiol.* 2010 Apr;108(4):1021]. *J Appl Physiol* (1985). 2010; 108(2):343-348. doi:10.1152/japplphysiol.00424.2009

23. Bacurau AV, Belmonte MA, Navarro F, et al. [Effect of a high-intensity exercise training on the metabolism and function of macrophages and lymphocytes of walker 256 tumor bearing rats]. *Exp Biol Med* (Maywood). 2007; 232(10):1289-1299. Doi: 10.3181/0704-RM-93

24. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux TL, et al. [Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice]. *Cytokine.* 2011; 55(2):274-279. doi:10.1016/j.cyto.2011.04.007.

25. P53, cancer and the immune response. Julianna Blagih, Michael D. Buck and Karen H. Vousden* © 2020. Published by The Company of Biologists Ltd | *Journal of Cell Science* (2020) 133, jcs237453. doi:10.1242/jcs.237453.

26. Michael A, Hedayati B, Dagleish AG. [Disease Regression in Malignant Melanoma: Spontaneous Resolution or a Result of Treatment with Antioxidants, Green Tea ,and Pineapple Cores? A Case Report]. *Integr Cancer Ther* 2007; 6(1): 77-9.

27. Bhui K, Tyagi S, Prakash B, Shukla Y. [Pineapple Bromelain Induces Autophagy, Facilitating Apoptotic Response in Mammary Carcinoma Cells]. *BioFactors* 2010; 36(6): 474-82.