

تأثیر تمرین ورزشی ترکیبی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن TCF-1 و GSK3 β در مغز موش‌های درگیر در گلیوبلاستوما مولتی فرم

سمانه افشاریوسفی^۱، یاسر کاظم‌زاده^{۱*}، حسین شیروانی^۲، ساناز میرزاییان شانجانی^۱

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران، ^۲ مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزش، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج)، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۲/۱۱/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: اصلاح سبک زندگی و استفاده از فناوری نانو از جمله راهکارهای درمانی برای سرطان‌ها محسوب می‌شود. لذا هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر تمرین ترکیبی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن فاکتور ۱ سلول T (TCF-1) و گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ بتا (GSK3 β) در مغز موش‌های درگیر در گلیوبلاستوما مولتی فرم بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۲ در دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد، تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار به طور مساوی به ۵ گروه کنترل سالم، گلیوبلاستوما مولتی فرم (GBM)، GBM+تمرین ترکیبی (CT)، GBM+مکمل نانوکورکومین (N-CUR) و GBM+CT+N-CUR تقسیم شدند. گلیوبلاستوما در قشر فرونتال موش‌ها تزریق شد و موش‌ها تمرین ورزشی به مدت ۴ هفته و ۳ روز در هفته به صورت ترکیب تمرین هوازی و مقاومتی را انجام دادند. مکمل نانو کورکومین با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۴ هفته، ۵ روز در هفته گاوژ شدند. در پایان، رت‌ها قربانی و ژن‌های TCF-1 و GSK3 β گلیوبلاستوما مغز به روش Real-time PCR آنالیز شدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری شاپیرو ویلک، لوین، آنالیز واریانس یک طرفه، تست تعقیبی توکی و همبستگی پیرسون تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیان فاکتور ۱ سلول T و گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ بتا در بافت مغز توموری شده رت‌ها افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم نشان داد ($p < 0.001$ برای هر دو متغیر)، اما نسبت به گروه GBM تمام گروه‌های درمانی به ویژه گروه GBM+CT+N-CUR کاهش معنی‌دار را در بیان mRNA TCF1 و mRNA GSK3 β در بافت مغز توموری شده نشان دادند ($p < 0.05$). همبستگی بین این دو فاکتور نیز در گروه‌های مختلف تحقیق تأیید نشد ($p > 0.05$). بر اساس تصاویر بافتی نیز القای تومور سبب تخریب انسجام بافتی شده و میزان نفوذ فاکتورهای التهابی و نفوسیت‌ها نیز در این بافت گسترش یافته است. با این وجود انجام تمرین ورزشی و مصرف مکمل کورکومین نانو منجر به کنترل آسیب بافتی تومور و تقلیل بافت توموری شد که این تغییرات در درمان ترکیبی بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: ترکیب تمرین و مکمل نانو کورکومین به نظر می‌رسد یک روش درمانی مؤثر در تنظیم منفی برخی ژن‌های مؤثر در بافت سرطانی مغز باشند. لذا می‌توان از آنها در دوره ریکاوری و یا درمان سرطان با دستور پزشک استفاده کرد. با این وجود در این زمینه، نیاز به مطالعات بیشتر به ویژه در نمونه انسانی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین ترکیبی، بافت مغز، گلیوبلاستوما، کورکومین

* نویسنده مسئول: یاسر کاظم‌زاده، اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: yaser.kazemzadeh@yahoo.com

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

قدرتی و هوازی ۱۲ هفته‌ای برای بیماران مبتلا به سرطان مغز پرداختند. نتایج آنها نشان داد یک برنامه ورزشی ترکیبی برای بیماران مبتلا به سرطان مغز می‌تواند از طریق بهبود شاخص دور کمر، قدرت چنگ زدن و بهبود تعادل کیفیت زندگی بیماران را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین در این مطالعه مدیریت علایم شامل؛ خستگی، افسردگی، اضطراب، خواب‌آلودگی، تنگی نفس و اضطراب در طول دوره یک مداخله ۱۲ هفته‌ای تمرین ورزشی بهبود یافت(۵). با این وجود پژوهش‌های کمی تأثیر ورزش‌های متنوع مقاومتی - هوازی بر سرطان مغز را در سطح سلولی ارزیابی کرده‌اند.

برای تقویت تأثیر تمرینات ورزشی در برخی سرطان‌ها معمولاً از مکمل‌های گیاهی نیز استفاده می‌شود تا بتواند تأثیرات آنتی‌اکسیدانتی، ضدالتهابی و تقویتی ناشی از ورزش را دوچندان کند(۶). کورکومین به طور گسترده در آسیا یا به عنوان زردچوبه به طور مستقیم یا به عنوان یکی از مواد آشپزی در دستورالعمل‌های غذا مصرف می‌شود. فواید کورکومین در سیستم‌های مختلف اندام به طور گسترده در چندین بیماری عصبی و سرطان گزارش شده است. کورکومین به دلیل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی، ضدالتهابی، ضدسرطانی و ضد میکروبی آن شهرت جهانی خود را به دست آورده است. علاوه بر این، در دیابت و آرتریت و همچنین در بیماری‌های کبدی، کلیوی و قلبی - عروقی استفاده می‌شود. اخیراً توجه فزاینده‌ای به استفاده از

در دهه گذشته، بروز سرطان در ایران افزایش یافته(۱) و تلاش‌های متعددی برای بقای بیشتر بیماران سرطانی با اصلاح سبک زندگی صورت گرفته است. علاوه بر این، در کارآزمایی‌های با کیفیت بالا، تصادفی و کنترل شده، رشد تصاعدی مشاهده شده که تأثیر ورزش را بر طیفی از پیامدهای مرتبط با سرطان در سراسر مسیر سرطان، از تشخیص تا پایان زندگی، ارزیابی کرده‌اند. مزایای حاصل از ورزش در طول درمان سرطان و پس از آن به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است. ۱۴۰ متآنالیز تا به امروز منتشر شده، که اکثر آنها(۷۵ درصد) مزایای آماری معنی‌دار و مرتبط بالینی را از طریق ورزش در طیف وسیعی از عوارض جانبی مرتبط با درمان، نتایج فیزیکی، عملکردی و روانی اجتماعی نشان می‌دهند(۲). سرطان مغز یک بیماری ناتوان کننده است که با بسیاری از عوارض جسمی و روانی اجتماعی همراه است(۳). درمان‌های سرطان مغز از جمله جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی می‌تواند بقای کلی را بهبود بخشد، اما می‌تواند با افزایش خستگی، مشکلات حافظه و تمرکز، افسردگی و تغییرات در ترکیب بدن بر کیفیت زندگی مرتبط با سلامت(HRQOL) تأثیر منفی بگذارد(۳). پژوهش‌ها فواید ورزش را برای بیماران سرطانی در مدیریت عوارض جانبی روانی-اجتماعی و فیزیولوژیکی مرتبط با سرطان و درمان‌های آن تأیید کرده است(۴)، کاپوزی و همکاران به بررسی تأثیر یک برنامه ورزش

ایجاد می‌کند، لذا در این مطالعه از شکل نانو شده کورکومین استفاده شد (۱۱).

فاکتور ۱ سلول T (Tcf1)، کدگذاری شده به وسیله Tcf7 (فاکتور رونویسی کلیدی مسیر سیگنالینگ Wnt متعارف است. Tcf1 در سال ۱۹۹۱ به عنوان رونوشت اختصاصی لنفوسیت T حاوی جعبه گروه با تحرک بالا (HMG) متصل به DNA کلون شناسایی شد (۱۲). تأیید شده که Tcf1 نقش مهمی در تعیین سرنوشت سلول T با شروع یک برنامه ژنی سلول T در پایین دست سیگنالینگ Notch ایفا می‌کند (۱۳). در سلول‌های T بالغ، Tcf1 برای تولید پاسخ حافظه سلول T یا CD8+ حیاتی شناخته شده است (۱۴). چندین مطالعه اخیر نقش‌های جدیدی را برای Tcf1 در تنظیم پاسخ‌های سلول‌های T محیطی در خود ایمنی، سرطان و عفونت مزمن ویروسی کشف کرده‌اند که منجر به توجه بالا به این فاکتور شده است. پاسینا و همکاران بیان کردند که افزایش بیان TCF-1 و LEF-1 مشخصه گلیوماهای بدخیم است. به ویژه که این فاکتورها ممکن است به عنوان یک نشانگر بالقوه برای تبدیل بدخیمی سرطان مغز عمل کند (۱۵)، لذا تنظیم منفی این فاکتورها می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی باشد. در رابطه با تأثیر ورزش بر این فاکتور جعفری و همکاران در مطالعه خود به بررسی تأثیر ورزش شنا و مصرف ویتامین D بر مسیر سیگنالینگ B-catenin/TCF در موش‌های مدل آندومتریوز پرداختند. به طور کلی نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که تنظیم بیان ژن بتا کاتنین و TCF در حالت طبیعی در فرآیند

کورکومین برای جلوگیری یا به تأخیر انداختن شروع بیماری‌های عصبی شده است (۷). با این وجود پژوهش‌هایی برای ارزیابی تأثیر ترکیبی کورکومین به ویژه شکل نانو با تمرین ورزشی بر سرطان مغز محدود می‌باشد. اوسالی و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که ترکیب ورزش منظم و مصرف نانو کورکومین به مدت ۶ هفته باعث کاهش التهاب می‌شود. در این مطالعه که فاکتورهای التهابی ارزیابی شد، مشخص شد که ورزش منظم در کنار نانوسلنیوم منجر به کاهش درصد چربی و در ادامه کاهش سطح IL-6 و افزایش سطح IL-10 شد (۸). بیرجندی و همکاران نیز تأثیر تمرینات مقاومتی و مکمل نانو کورکومین را بر سطوح سینیویال کلاژناز و اکسید نیتریک در زنان مبتلا به آرتروز زانو ارزیابی کردند. نتایج این پژوهشگران تأیید کرد که مکمل نانو کورکومین می‌تواند روشی مؤثر برای کاهش سطوح عوامل التهابی در مایعات سینیویال بیماران مبتلا به آرتروز زانو باشد (۹). در پژوهش‌های مرتبط با سرطان نیز عابد و همکاران تأیید کردند که ورزش هوازی و مکمل نانو کورکومین از بروز علائم سرطان از طریق مسیر MAPK/ERK جلوگیری می‌کند (۱۰). در تمام این پژوهش‌ها از شکل نانو شده کورکومین با تمرین استفاده شد. نانوذرات برای مقاصد پزشکی شامل انواع سیستم‌های انتقال دارو مهم هستند. آنها دارای ابعاد کمتر از ۲۰۰ نانومتر برای کاربردهای مغزی بوده و تا ۱۰۰۰ نانومتر قابل گسترش هستند. همچنین نانو کردن برخی مکمل‌ها درجه بالایی از نفوذ بافتی را

اندومتریوز می تواند سطح این بیماری را بهبود بخشد و احتمالاً ورزش های شنا و مصرف هم زمان ویتامین D با تنظیم مسیر β -کاتنین/TCF در کنترل بیماری مؤثر هستند (۱۶). تیموری و همکاران بیان کردند که نانوذرات مملو از کورکومین باعث افزایش انتقال هسته ای β -کاتنین، کاهش سطح GSK-3 β و افزایش فعالیت پروموتور TCF/LEF و cyclin-D1 شده و به شدت باعث ایجاد نوروزن بزرگسالان و معکوس کردن نقص های شناختی در مدل بیماری آلزایمر می شود (۱۷)، لذا بررسی تأثیر ترکیب تمرین و نانوکورکومین بر TCF بافت مغز در شرایط تومور نیز حایز اهمیت است.

پروتئین فعال گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ (GSK3)، یک سرین/ترونین کیناز، به طور متناقضی به عنوان یک سرکوب کننده تومور در برخی از سرطان ها عمل می کند، در حالی که رشد را در برخی دیگر تقویت می کند (۱۸). رمزگشایی آنچه بر اعمال آن حاکم است برای درک بسیاری از شرایط پاتولوژیک، از جمله سرطان مغز، حیاتی است. نقش های به ظاهر متفاوت GSK3 ناشی از تنظیم پیچیده بسیاری از عملکردهای سلولی به وسیله GSK3 است. در مورد تأثیرات ورزش بر این فاکتور پنگ و همکاران نشان دادند که ورزش هوازی آپوپتوز را از طریق مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt/GSK-3 β برای بهبود اختلالات شناختی در موش های مبتلا به آلزایمر تنظیم می کند (۱۹). همچنین زانگ و همکاران نقش GSK3 β را در بافت هیپوکامپ در شرایط فیزیولوژیک بعد از تمرین ورزشی مورد

بررسی قرار دادند. نتایج این محققان نشان داد که ورزش داوطلبانه با تنظیم بیان و فعالیت GSK3 β ، ممکن است از طریق مسیر سیگنال دهی گیرنده DARPD1، شناخت و نوروزن را در شکنج دنداندار موش مایس بالغ ارتقا دهد (۲۰). ساروی و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که کورکومین و نانوکورکومین سمیت عصبی مس را با تعدیل استرس اکسیداتیو، التهاب و سیگنال دهی Akt/GSK-3 β کاهش می دهند (۲۱). با این وجود تغییرات این فاکتور با تمرین ورزشی و مکمل نانوکورکومین در سرطان مغز بررسی نشده است.

در پژوهش های متعدد تأیید شده که تمرین ورزشی و مکمل های گیاهی می توانند در سطح سلولی مسیرهای سیگنال دهی را در بیماری های مختلف تعدیل کند. با توجه به مرگ و میر بالای ناشی از سرطان مغز، پژوهش های نقش تمرین ترکیبی و مکمل نانوکورکومین را بر مسیرهای سیگنالینگ گلیوبلاستوما بررسی کرده اند. در این مطالعه فرض می شود که تمرین در کنار مکمل کورکومین به ویژه به صورت نانو قادر به تعدیل مسیر سلول سرطانی از طریق تنظیم بیان ژن های GSK3 و TCF-1 باشد. لذا هدف از این مطالعه هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر تمرین ترکیبی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن فاکتور ۱ سلول T (TCF-1) و گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ بتا (GSK3 β) در مغز موش های درگیر در گلیوبلاستوما مولتی فرم بود.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع تجربی می‌باشد که در سال ۱۴۰۲ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر انجام شد. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی ۸ هفته‌ای ویستار با میانگین وزنی (۱۶/۹۹ ± ۲۲۳ گرم) از انستیتو پاستور تهران، ایران خریداری شد. موش‌ها به صورت جداگانه در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف (۵ موش در یک قفس) در شرایط آزمایشگاهی ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۵ درصد و چرخه نور تا تاریکی ۱۲ ساعته قرار گرفتند، غذا و آب به طور آزاد در دسترس رت‌ها بود. پس از آشنایی یک هفته‌ای با محیط آزمایشگاه و تمرین روی تردمیل، موش‌ها به ۵ گروه مساوی شامل؛ کنترل سالم، گلیوبلاستوما مولتی فرم (GBM)، GBM+تمرین ترکیبی (CT)، GBM+مکمل نانوکورکومین (N-CUR) و GBM+CT+N-CUR تقسیم شدند. القای سرطان با استفاده از سلول‌های گلیوبلاستوما ایجاد شد و پس از تأیید القای سرطان به وسیله پاتولوژیست، حیوانات وارد دوره تمرین (۳ روز در هفته استقامتی، ۳ روز در هفته مقاومتی) شدند. لازم به ذکر است تمامی مراحل پژوهش به وسیله کمیته اخلاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، پیشوا (مطابق با استانداردهای (National Institutes of Health; NIH)) مطالعه شد و با تأییدیه کمیته اخلاق مورد تصویب قرار گرفت.

سلول‌های گلیوبلاستوما موشی رده C6

(مرکز ملی ذخایر ژنتیکی) تهیه شد. سلول‌های C6 در

فلاسک در محیط کشت بافت (RPMI)^(۱)، ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین، ۷۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین (داروسازی جابرین حیان) و ۲ گرم در لیتر سدیم بی‌کربنات ۱۰ درصد کشت داده شدند. محیط کشت سلولی به حجم نهایی ۱۰۰۰ میلی‌لیتر، pH آن بر روی ۷/۱ تنظیم گردید. مایع رویی پس از شستشو با بافر نمکی فسفات (PBS)^(۲) و محلول تریپسین-EDTA ۰/۰۲۵ درصد و با محیط FBS ۱۰ درصد خنثی‌سازی شد. سپس محلول با ۱۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و سلول‌ها جداسازی شدند. تراکم اولیه برای کشت سلول ۱۰۰۰۰۰ لاندرا در نظر گرفته شد. در نهایت برای شمارش و بقاء 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.^۱

برای القای تومور، حیوانات با تزریق صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و زیلازین (۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بیهوش شدند. ابتدا موهای سر حیوان تراشیده شد. سپس با قرار دادن میله به داخل گوش‌ها و فیکس کردن دندان‌های فوقانی به دستگاه استریوتاکیسی (مدل ۲۰۰۱۹۵۵۰۴) حیوان ثابت شد. پس از ایجاد برش پوستی در ناحیه پشتی جمجمه و

1- Tissue-culture medium (DMEM or RPMI)

2-Buffered saline Pho

شد، پروتکل فعالیت ورزشی بر اساس پژوهش‌های پیشین (۲۳ و ۲۴) تعدیل شد.

برای تهیه نانو کورکومین از ۵۰۰ میلی‌گرم کیتوزان، ۵۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ۲ درصد، کورکومین، اتانول (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و ۱۵ میلی‌لیتر محلول TPP با حجم ۱ درصد استفاده شد. محلول تهیه شده به مدت ۱ ساعت به هم زده شد و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و نانوذرات کیتوزان محصور در کورکومین به دست آمد. در نهایت، پس از تهیه محصول برای هر حیوان، ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم N-CUR به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته گاوآژ شد (۲۵).

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی رت‌ها با ماده کتامین/زایلازین (نسبت ۱/۳) بیهوش و خون‌گیری انجام شد. پس از اطمینان از قربانی شدن حیوان بافت مغز (نصف ناحیه تومور) برداشته و با استفاده از تانک ازت به یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. برای بررسی بیان ژن‌های TCF-1 و GSK3 β گلیوبلاستوما مغز از تکنیک ریل تایم PCR استفاده شد. برای آماده سازی پرایمرها از آب مقطر حاوی پرایمر لیوفیلیزه ۱۰ میکرولیتر، پرایمر جلویی^(۱) و پرایمر معکوس^(۲) ۰/۵ میکرولیتر و آب دپس^(۳) ۸ میکرولیتر استفاده شد. برای بررسی بیان ژن به روش RT-PCR RNA کل سلول با استفاده از محلول کیزول و بر اساس پروتکل شرکت سیناژن استخراج

برداشتن پریوستوم، با استفاده از مته دندانپزشکی، باز کردن درپوش استخوان انجام شد. موقعیت کاشت با توجه به دستورالعمل‌های سانسون (۲۲) 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 ۱۰۰ لاند رقیق شدند. 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 بلند شد تا این که کاملاً از مغز خارج شود. سپس استخوان با استفاده از موم بسته شد و پوست با استفاده از نخ پنبه بخیه شد.

پس از القای سلول‌های سرطانی در حیوانات و مدت زمان یک هفته‌ای آشنایی تمرین (توانبخشی)، حیوانات وارد بدنه اصلی تمرینی شدند. برنامه تمرین ترکیبی اصلی به مدت ۴ هفته با تعدیل برنامه‌های قبلی و پایلوت اولیه بر روی رت‌ها طراحی شد، بدین صورت که فاز تمرین هوازی به مدت ۲۰-۳۵ دقیقه با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه بر روی نوارگردان اجرا شد و فاز مقاومتی تمرین نیز هم‌زمان در دامنه ۳۰ تا ۱۰۰ درصد وزن بدن با بستن وزنه به دم موش‌ها در ۳ ست با ۴ تکرار به صورت بالا رفتن از نردبان اجرا

صورت توامان با هم اندازه‌گیری شد. پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آمده است. بافت مغز(نصف ناحیه تومور) نیز در فرمالین ۴ درصد تثبیت شد. بافت تثبیت شده با فرمالین در پارافین جاسازی شده، با ضخامت ۵ میکرومتر برش داده شد و با همتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شد. تجزیه و تحلیل بافت شناسی بر اساس معیارهای نمره‌گذاری مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیرو ویلک، لوین، آنالیز واریانس یک طرفه، تست تعقیبی توکی و همبستگی پیرسون تجزیه و تحلیل شدند.

شد. کیفیت RNAهای استخراج شده با دستگاه اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تهیه cDNA تک رشته‌ای از پرایمر Oligo dt و آنزیم نسخه‌برداری معکوس بر اساس پروتکل مربوطه انجام شد. هر واکنش PCR در دستگاه ABI Step One طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. چرخه‌های واکنشی Real-Time PCR برای ژن‌های TCF-1 و GSK3β با سه دمای ۶۰، ۷۲ و ۹۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. نمودار ذوب (Melting) جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شد. از گلیسرآلدئید ۳ فسفات (GAPDH)^(۴) به عنوان ژن مرجع TCF-1 و GSK3β استفاده گردید. میزان بیان ژن‌های کنترل و تجربی به

جدول ۱: برنامه تمرین ترکیبی برای گروه‌های تمرینی مطالعه^۲.

برنامه تمرینی	هفته	ست ها و تکرارها	شدت	مدت	تواتر
مرحله تمرین هوایی	۱		۱۸ متر/ دقیقه	۲۰ دقیقه/ روز	۳ روز/ هفته
	۲		۱۸ متر/ دقیقه	۲۵ دقیقه/ روز	۳ روز/ هفته
	۳		۱۸ متر/ دقیقه	۲۰ دقیقه/ روز	۳ روز/ هفته
	۴		۱۸ متر/ دقیقه	۲۵ دقیقه/ روز	۳ روز/ هفته
تمرین همزمان	۱	۳ ست ۴ تکراری	۳۰ درصد وزن بدن	۳-۶۰ استراحت: تکرار ۳ دقیقه بین ست ها	۳ روز/ هفته
	۲	۳ ست ۴ تکراری	۵۰ درصد وزن بدن	۳-۶۰ استراحت: تکرار ۳ دقیقه بین ست ها	۳ روز/ هفته
	۳	۳ ست ۴ تکراری	۸۰ درصد وزن بدن	۳-۶۰ استراحت: تکرار ۳ دقیقه بین ست ها	۳ روز/ هفته
	۴	۳ ست ۴ تکراری	۱۰۰ درصد وزن بدن	۳-۶۰ استراحت: تکرار ۳ دقیقه بین ست ها	۳ روز/ هفته

جدول ۲. توالی پرایمر

پرایمر	ژن
Forward: CAAGTTCAAGGGCACAGTCA	TCF-1
Reverse: CCCCATTTGATGTTAGCGGG	
Forward: CAGAATCCACAGATACAGCA	
Reverse: CAGCCTTTGAAATCTTCATC	
Forward: TTCTCGGTACTACAGGGCAC	GSK3β
Reverse: ACAGCCTGCAGACCATACAT	

- 1-Primer Forward
- 2-Primer Revers
- 3- DEPC Water
- 4-Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH)

یافته‌ها

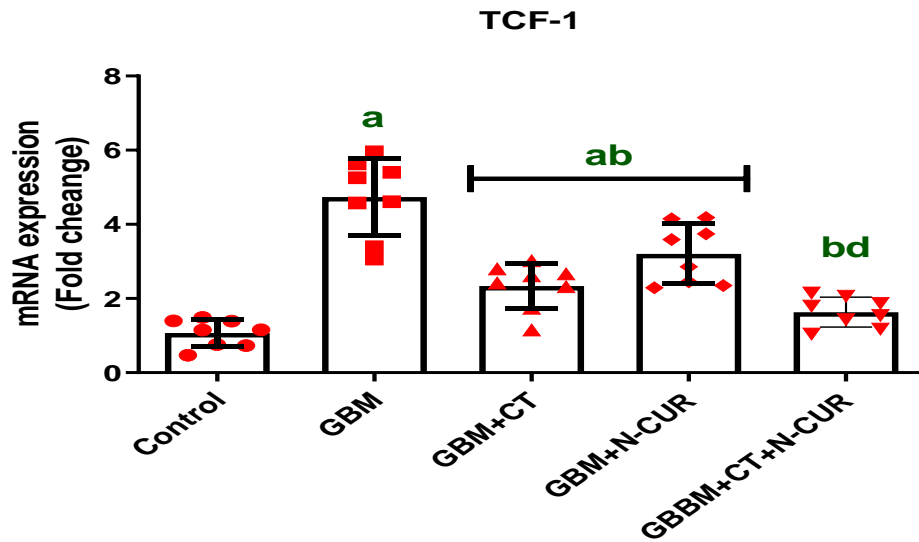
تغییرات بیان mRNA TCF1 در گروه‌های مختلف تحقیق در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین گروه‌های مختلف پژوهش در بیان mRNA TCF1 بافت مغز توموری شده اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.0001$ و $F=34/19$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که گروه‌های GBM ($p < 0.0001$)، GBM+CT ($p < 0.007$) و GBM+N-CUR ($p < 0.0001$) افزایش معنی‌دار در بیان mRNA TCF1 را نسبت به گروه کنترل سالم نشان دادند. نسبت به گروه GBM نیز تمام گروه‌های درمانی به ویژه درمان ترکیبی (GBM+CT+N-CUR) کاهش معنی‌داری را در بیان mRNA TCF1 نشان دادند ($p < 0.001$) برای همه (شکل ۱).

نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین گروه‌های مختلف پژوهش در بیان mRNA GSK3 β بافت مغز توموری شده اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.0001$ و $F=28/91$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که گروه‌های GBM ($p < 0.0001$)، GBM+CT ($p = 0.0004$)، GBM+N-CUR ($p < 0.0001$) و GBM+CT+N-CUR ($p < 0.0001$) افزایش معنی‌دار در بیان mRNA GSK3 β را نسبت به

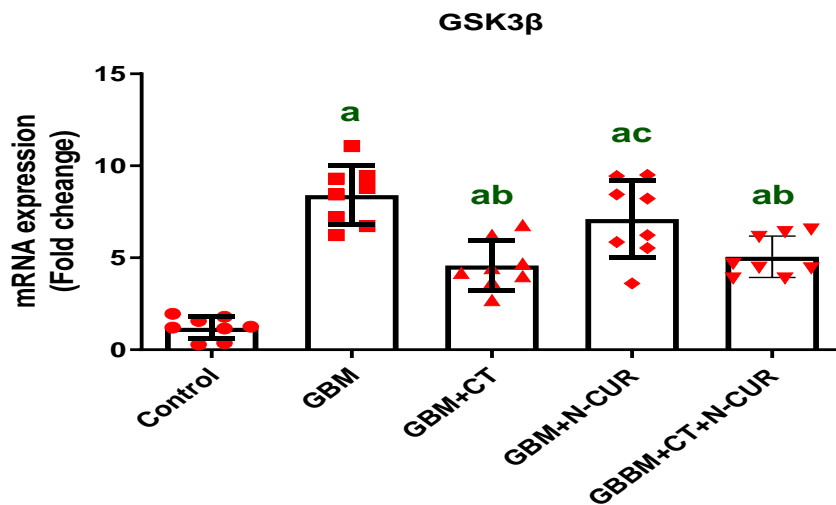
گروه کنترل سالم نشان دادند. نسبت به گروه GBM نیز گروه‌های GBM+CT ($p < 0.0001$) و گروه GBM+CT+N-CUR کاهش معنی‌داری را در بیان mRNA GSK3 β نشان داد (شکل ۲) ($p = 0.0004$).

برای بررسی ارتباط بین دو ژن mRNA GSK3 β و mRNA TCF1 بافت مغز سرطانی شده به وسیله GBM در گروه‌های مختلف تحقیق با روش آماری پیرسون مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۳). همان‌طور که مشاهده می‌شود، همبستگی مثبت و منفی بین این دو ژن در گروه‌های مختلف وجود دارد با این وجود این همبستگی در هیچ کدام از گروه‌ها معنی‌دار نبود ($p < 0.05$).

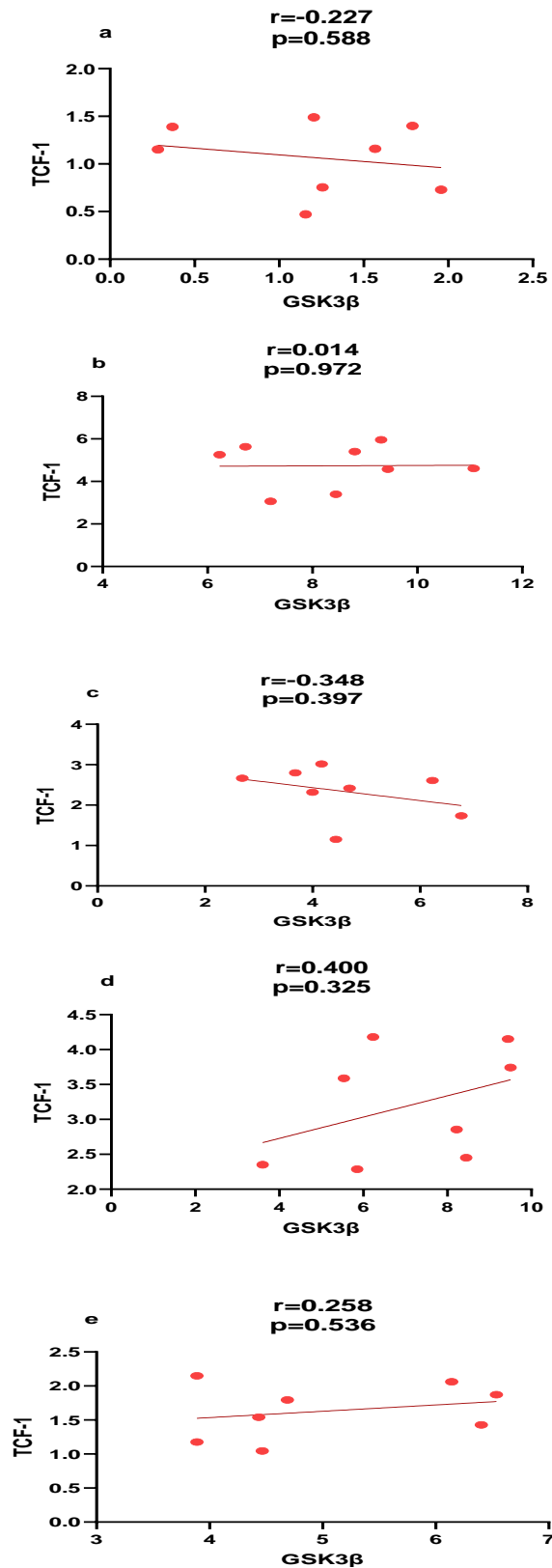
تصاویر بافتی از مغز توموری شده با GBM در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود القای تومور سبب تخریب انسجام بافتی شده و میزان نفوذ مود التهابی و لنفوسیت‌ها نیز در این بافت گسترش یافته است. با توجه به میزان بزرگ‌نمایی تصویر برخی از تخریبات سلولی مشخص نیست. با این وجود انجام تمرین ورزشی و مصرف مکمل کورکومین نانو منجر به کنترل آسیب بافتی تومور و تقلیل بافت توموری شد که این تغییرات در درمان ترکیبی بیشتر بود.



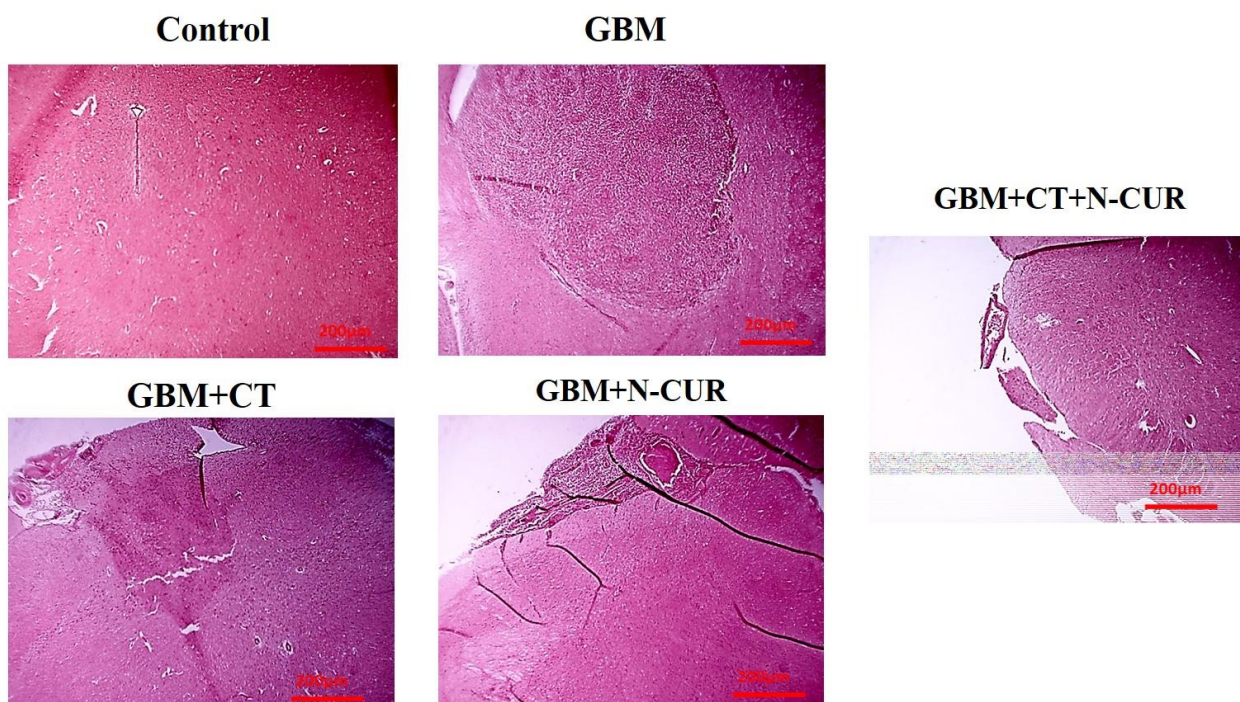
شکل ۱: تغییر mRNA TCF-1 در گروه‌های مختلف مطالعه. گروه GBM بیشترین افزایش را در TCF-1 بافت مغز سرطانی شده نشان داد. در حالی که درمان ترکیبی تمرین و مکمل نانو کنترل بهتری بر این ژن در نمونه سرطانی داشت. داده‌ها به صورت میانگین انحراف استاندارد نشان داده شده است. a: نشانه معنی داری نسبت به گروه Control می باشد ($p < 0.05$). b: نشانه معنی داری نسبت به گروه GBM می باشد ($p < 0.05$). c: نشانه معنی داری نسبت به گروه GBM+CT می باشد ($p < 0.05$). d: نشانه معنی داری نسبت به گروه GBM+N-CUR می باشد ($p < 0.05$). علائم لاتین: TCF-1: T-cell factor 1، Control: گروه کنترل، GBM: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم، GBM+CT: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم+ تمرین ترکیبی، GBM+N-CUR: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم+مکمل نانوکورکومین، GBM+CT+N-CUR: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم+ تمرین ترکیبی+ مکمل نانوکورکومین



شکل ۲: تغییر mRNA GSK3 β در گروه‌های مختلف مطالعه. گروه GBM بیشترین افزایش را در mRNA GSK3 β بافت مغز سرطانی شده نشان داد. در حالی که درمان ترکیبی تمرین و مکمل نانو کنترل بهتری بر این ژن در نمونه سرطانی داشت. داده‌ها به صورت میانگین انحراف استاندارد نشان داده شده است. a: نشانه معنی داری نسبت به گروه Control می باشد ($p < 0.05$). b: نشانه معنی داری نسبت به گروه GBM می باشد ($p < 0.05$). c: نشانه معنی داری نسبت به گروه GBM+CT می باشد ($p < 0.05$). d: نشانه معنی داری نسبت به گروه GBM+N-CUR می باشد ($p < 0.05$). علائم لاتین: mRNA GSK3 β : گلیکوژن سنتاز کیناز ۳، Control: گروه کنترل، GBM: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم، GBM+CT: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم+ تمرین ترکیبی، GBM+N-CUR: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم+مکمل نانوکورکومین، GBM+CT+N-CUR: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم+ تمرین ترکیبی+ مکمل نانوکورکومین



شکل ۳: ارتباط بین mRNA TCF-1 و mRNA GSK3β در گلیوبلاستومای مغز رت‌های گروه‌های مختلف مطالعه با استفاده از همبستگی پیرسون (a): گروه کنترل، b: گروه گلیوبلاستومای مولتی فرم، c: گروه گلیوبلاستومای مولتی فرم + تمرین ترکیبی، d: گروه گلیوبلاستومای مولتی فرم + مکمل نانوکورکومین، e: گروه گلیوبلاستومای مولتی فرم + تمرین ترکیبی + مکمل نانوکورکومین. داده‌ها به صورت میانگین انحراف استاندارد نشان داده شده است ($p < 0.05$).



شکل ۴: تغییرات هیستولوژیک بافت مغز توموری رت‌ها در گروه‌های مختلف تحقیق با تکنیک رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (بزرگنمایی ۲۰۰ میکرومتر). القای تومور سبب تخریب و گسترش التهاب بافتی شد، در حالی که مدالیته‌های درمانی به ویژه درمان ترکیبی در کنترل تخریب بافتی موثر بود. Control: گروه کنترل، GBM: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم، GBM+CT: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم + تمرین ترکیبی، GBM+N-CUR: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم + مکمل نانوکورکومین، GBM+CT+N-CUR: گروه گلیوبلاستمای مولتی فرم + تمرین ترکیبی + مکمل نانوکورکومین

بحث

افزایش بیان TCF-1 مشخصه گلیوماهای بدخیم است. افزایش تکثیر و هایپوکسی ناشی از یک سرطان یکی از دلایل افزایش ژن‌های درگیر در سرطان است. هایپوکسی با سیگنال‌دهی فاکتور القایی هایپوکسی به بیان بیش از حد TCF1 و LEF1 در مغز سالم (۲۸ و ۲۷) و GBM (۲۹) کمک می‌کند. لذا یکی از دلایل قطعی برای افزایش بیان ژن TCF-1 در مطالعه حاضر نیز افزایش هایپوکسی در بافت تومور می‌باشد. هر چند در این مطالعه فاکتورهای مرتبط با هایپوکسی نظیر HIF-1 اندازه‌گیری نشد، فعال‌سازی نا به جای سیگنال‌دهی Wnt و TCF-1 مؤثر در گلیوموژن بوده و پتانسیل تهاجمی GBM را افزایش می‌دهد (۳۰). در شرایط سرطان تایید شده که فعال‌سازی TCF ژن‌های

تمرین ورزشی و استفاده از مکمل‌های گیاهی آنتی‌اکسیدانتی می‌تواند تأثیرات سینرژیک در کنترل و یا حتی درمان بیماری‌های مختلف و سرطان داشته باشد (۴). لذا هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر تمرین ترکیبی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن فاکتور ۱ سلول T (TCF-1) و گلیکوژن سنتتاز کیناز ۳ بتا (GSK3 β) در مغز موش‌های درگیر در گلیوبلاستوما مولتی فرم بود.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر بیان ژن TCF-1 در گروه‌های توموری افزایش معنی‌داری را نشان داد. این نتیجه با نتایج پژوهش پسینا و همکاران (۱۵) و کافکا و همکاران (۲۶) هم‌سو بوده که تأیید کردند

دهد(۳۴). چاقی هم‌چنین با ایجاد چندین نوع سرطان به وسیله مکانیسم‌های بیولوژیکی یکسان همراه است(۳۳). ورزش با کاهش چربی بدن و کاهش بروز چندین نوع سرطان نقش درمانی مهمی دارد(۳۳)، بافت چربی قهوه‌ای یکی از عوامل کنترل‌کننده TCF-1 مستقل از مسیر $wnt/\beta\text{catenin}$ می‌باشد(۳۵). این بافت به شدت تحت تاثیر تمرین ورزشی قرار می‌گیرد. به نظر می‌رسد تمرین ورزشی مطالعه حاضر با کاهش وزن و تنظیم بافت چربی به ویژه بافت چرب قهوه‌ای نیز در کنترل TCF-1 مؤثر بوده باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که فعالیت بدنی و ورزش منظم با کاهش سطح سایتوکاین‌های التهابی، گردش پروتئین واکتس‌گر C و $TNF-\alpha$ و افزایش سطح مایوکاین‌های ضد التهابی، التهاب را کاهش می‌دهد(۳۶). ورزش هم‌چنین عملکرد سیستم ایمنی را تقویت می‌کند که ممکن است در پیشگیری از سرطان نقش داشته باشد(۳۳). از آنجایی که TCF-1 یک فاکتور رونویسی است که نقش مهمی در طول توسعه و تمایز سلول T برای انجام عملکردهای ایمنی ایفا می‌کند(۳۷)، لذا تمرین ورزشی بی‌شک یکی از عوامل مؤثر بر این فاکتور می‌باشد. با این حال، برای بررسی این مکانیسم‌ها در پیشگیری از GBM، پژوهش‌های بیشتری مورد نیاز است.

در رابطه با تأثیر مکمل نانوکورکومین بر TCF-1 نیز نتایج مطالعه حاضر بر خلاف نتیجه مطالعه تیواری و همکاران می‌باشد که افزایش بیان TCF-1 را در مدل آلزایمر با مصرف نانوکورکومین نشان دادند(۱۷). تیواری و همکاران به تأثیرات نوروژنی و

پاسخگو به رونویسی cyclin D1 و c-Myc را تنظیم می‌کند، لذا سیگنالینگ β -کاتنین/TCF در پیشرفت تا متاستاز سرطان نقش دارد(۲۲ و ۳۱). در نتیجه کنترل و تنظیم منفی این فاکتور در بافت تومور می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی در سطح سلولی باشد. در مطالعه حاضر تمرین ترکیبی و مکمل نانوکورکومین کاهش معنی‌داری را در بیان ژن TCF-1 بافت توموری مغز ایجاد کرد. ترکیب این دو نیز بیشترین کاهش را در بیان TCF-1 ایجاد کرد، نتایج مطالعه حاضر با تحقیق جعفری و همکاران هم‌سو بود که سازگاری و تنظیم منفی TCF را با تمرین ورزشی شنا و مکمل دهی ویتامین D در مدل اندومتريوز تأیید کردند(۱۶). اگرچه مکانیسم کاهش خطر و عود سرطان مغز با ورزش هنوز به خوبی شناخته نشده است، پیشنهاد می‌شود که ورزش از طریق تنظیم فرآیندهای سلولی و رشد تومور(از جمله کاهش فاکتورهای رونویسی نظیر TCF) تأثیر مثبتی بر محیط میکروسکوپی تومور دارد(۳۳). در پژوهش‌های مرتبط با سرطان مغز پیشنهاد شده است که ورزش چندین اثر بیولوژیکی برای تعدیل این فرآیندها و تنظیم این فاکتورهای سلولی اعمال می‌کند، از جمله کنترل متابولیسم انسولین/گلوکز، عملکرد سیستم ایمنی، التهاب، غلظت هورمون‌های جنسی، استرس اکسیداتیو، بی‌ثباتی ژنومی و آزادسازی مایوکاین(۳۳). ورزش منظم باعث کاهش سطح انسولین پلاسما و فاکتور رشد انسولین(IGF-1) می‌شود که ممکن است با کاهش فعال شدن گیرنده تیروزین کیناز، تکثیر سرطان را کاهش

در رده‌های سلولی گلیوبلاستوما بالا است و تجمع گلیکوژن پدیده‌ای است که با رشد سلول‌های بدخیم مرتبط است (۴۳). با این حال، نقش GSK3 β بسیار فراتر از متابولیسم گلیکوژن و هموستاز گلوکز است. این پروتئین نقش محوری در تعدیل فعالیت β -کانتین، یک فعال کننده فاکتورهای رونویسی متعلق به خانواده TCF/LEF (فاکتور سلول T/فاکتور تقویت کننده لنفوئید) دارد. β -کانتین می‌تواند به هسته منتقل شود و در آنجا به پروتئین‌های TCF/LEF متصل می‌شود و ژن‌های کد کننده پروتئین‌های دخیل در تکثیر، تمایز، بقا و آپوپتوز را فعال می‌کند. در مطالعه حاضر نیز مقادیر TCF-1 گروه‌های توموری افزایش یافت، اما همبستگی بین این دو فاکتور تأیید نشد.

GSK3 β همچنین می‌تواند ثبات و فعالیت فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF- κ B)، یک مجموعه پروتئینی درون سلولی را تنظیم کند که رونویسی DNA را کنترل و به عنوان یک عامل بقا در سلول سرطانی عمل می‌کند (۴۴). علاوه بر این، GSK3 β فاکتور c-MYC را فسفریله می‌کند، MYC یک فاکتور رونویسی که در تنظیم رشد و تکثیر سلولی نقش دارد (۴۵)، لذا تنظیم منفی این فاکتور با تمرین ورزشی و مکمل نانوکورکومین می‌تواند بسیاری از مسیرهای پایین دستی سلول تومور را متوقف و رشد گلیوبلاستوما را کنترل کند. هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر شارما و همکاران نشان دادند که درمان با نانوذرات مس و تمرینات ورزشی (شنا استقامتی) به تنهایی یا به صورت ترکیبی مسیرهای کیناز GSK-3 β را فسفریله

افزایش TCF-1 را در مدل دژنراتیو مغزی بررسی کرده در حالی که مطالعه حاضر TCF-1 را در بافت تومور مغزی ارزیابی کرد، لذا تفاوت در مدل ایجاد شده می‌تواند توجیه کننده نتایج متناقض این دو تحقیق باشد. در رابطه با مکانیسم‌های اثر کورکومین باید بیان کرد که کورکومین اثرات سیتوتوکسیک متعددی از جمله توقف چرخه سلولی، آپوپتوز، اتوفاژی، تغییرات در بیان ژن و اختلال در سیگنال‌دهی مولکولی را در سلول‌های تومور ایجاد می‌کند (۳۸ و ۳۹). لذا کنترل ژن TCF-1 در بافت توموری مطالعه حاضر نیز دور از انتظار نیست.

همانند TCF-1 مقدار بیان ژن GSK3 β نیز در بافت تومور مغز افزایش معنی‌دار را نسبت به گروه کنترل نشان داد. در حالی که تمرین ورزشی ترکیبی و همچنین ترکیب تمرین و مکمل نانوکورکومین مقادیر بیان ژن این فاکتور را کاهش داد. هم‌سو با نتایج گروه تومور مطالعه حاضر تأیید شده که سطوح GSK3 β و GSK3 β فسفریله شده در GBM در مقایسه با بافت‌های مغز غیرنئوپلاستیک افزایش می‌یابد (۴۰). بر اساس پژوهش‌ها این پروتئین مولکول مهمی است که بر فنوتیپ بدخیم GBM تأثیر می‌گذارد. در ابتدا، GSK3 β به عنوان یک کیناز شناسایی شد که گلیکوژن سنتاز (GYS) را فسفریله و غیرفعال می‌کند (۴۱)، تحت شرایط پایه، GSK3 β فاکتور GYS را فسفریله و فعالیت آن را سرکوب می‌کند و سنتز گلیکوژن را مسدود می‌کند. مهار GSK3 β منجر به فعال شدن GYS و در نتیجه سنتز گلیکوژن می‌شود (۴۲). سطح گلیکوژن به ویژه

نیز برای مهار GSK-3 β در سلول‌های توموری بررسی و تأیید شده است (۴۹). بر خلاف نتایج مطالعه حاضر بلتاگی و همکاران در مدل آلزایمر تأیید کردند که درمان با نانوکورکومین، حافظه، حرکت، تمایز عصبی را با فعال کردن مسیر PI3K/AKT/GSK-3 β بهبود بخشید. این نتایج به وسیله پژوهش‌های بافت‌شناسی در هیپوکامپ تأیید شد (۵۰). در مطالعه حاضر بیان ژن GSK-3 β به تنهایی در بافت توموری بررسی شد این در حالی بود که در شرایط آلزایمر در بافت مغز GSK-3 β در نورونز مؤثر می‌باشد. در شرایط تومور GSK-3 β و مسیرهای وابسته به آن در رشد تومور مؤثر هستند، لذا تنظیم منفی آن جنبه درمانی دارد که در مطالعه حاضر ترکیب تمرین و نانوکورکومین بر این فاکتور مؤثر بود. بررسی‌های متعددی اثرات ضد توموری متنوع کورکومین از جمله مهار تکثیر سلول‌های تومور، القای آپوپتوز و مسدود کردن متاستاز را نشان داده‌اند. این یافته‌ها کورکومین را به یک نامزد امیدوارکننده برای درمان سرطان تبدیل کرده است (۵۱). با این وجود تفاوت در دوز این مکمل و شکل معمولی و نانو آن می‌تواند در نتایج پژوهش‌ها تأثیرگذار باشد.

از جمله محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم اندازه‌گیری بیان پروتئین‌های مطالعه حاضر در کنار بیان ژن، عدم بررسی فاکتورهای هایپوکسی در تومور مغزی بعد از تمرین و مکمل، عدم اندازه‌گیری فاکتورهای التهابی و اکسایشی جریان خون و بررسی همبستگی آنها با متغیرهای ژنی مطالعه حاضر و

می‌کند و استرس اکسیداتیو، سیتوکین‌های التهابی، آپوپتوز را کاهش می‌دهد و فراهمی زیستی NO سرم را در موش‌های مبتلا به ایسکمی/پررفیوژن افزایش می‌دهد که از آسیب میوکارد محافظت می‌کند (۴۶). با این وجود در مطالعه حاضر ژن GSK-3 β در بافت توموری ارزیابی شد. همسو با نتایج مطالعه حاضر شیائو و همکاران نشان دادند که تمرین ورزشی (۳۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته، به مدت ۴ هفته) با کاهش هایپوکسی و کاهش هموستاز سلول سرطانی از طریق مسیر Akt/GSK-3 β / β -catenin، پیشرفت کارسینوم کبدی را در موش‌های BALB/c سرکوب می‌کند (۴۷). در رابطه با مکانیسم‌های تأثیر تمرین این محققان بیان کردند که هایپوکسی ناشی از تمرین از عوامل مهم مهار مسیر سیگنالینگ Akt/GSK-3 β / β -catenin در سلول سرطانی می‌باشد. در مطالعه حاضر هرچند فاکتورهای هایپوکسی در سلول تومور بررسی نشد، اما به نظر می‌رسد هایپوکسی ناشی از تمرین در مطالعه حاضر نیز در تنظیم منفی GSK-3 β مؤثر باشد. از دیگر مکانیسم‌هایی که اخیراً توسط هوانگ و همکاران تأیید شده ارتباط و گفت و گوی عضله اسکلتی و بافت تومور می‌باشد (۴۸). بر اساس این فرضیه انقباض عضلانی ناشی از تمرین ورزشی می‌تواند به صورت اندوکرین بافت تومور را تحت تأثیر قرار دهد که به نظر می‌رسد نتایج مطالعه حاضر نیز از این قاعده مستثنی نیست با این وجود در مطالعه حاضر مارکرهای ارتباط عضله و تومور در کنار شاخص‌های منتخب ارزیابی نشد. توانایی کورکومین

حمایت مالی

این تحقیق هیچ‌گونه کمک مالی از سازمانهای دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان نامه مقطع دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی از دانشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر با کد اخلاق IR.IAU.VARAMIN.REC.1402.018 می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان به صورت یکسان در تهیه و تنظیم این مقاله نقش داشته اند.

همچنین عدم کنترل استرس درونی رت‌ها حین تمرین بود. لذا به نظر می‌رسد فرم نانو شده کورکومین با دسترسی آسان‌تر به بافت تومور در کنار تمرین ترکیبی بهترین تأثیر را بر کنترل مسیرهای سلولی بافت تومور مغز داشته باشد. با این وجود در این زمینه نیاز به پژوهش‌های بیشتر به ویژه در نمونه انسانی است.

نتیجه‌گیری

ترکیب تمرین و مکمل نانو کورکومین به نظر می‌رسد یک روش درمانی مؤثر در تنظیم منفی برخی ژن‌های مؤثر در بافت سرطانی مغز از جمله ژن فاکتور ۱ سلول T (TCF-1) و گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ بتا (GSK3 β) باشند، لذا می‌توان از آنها در دوره ریکواری و یا درمان سرطان با دستور پزشک استفاده کرد. با این وجود در این زمینه، نیاز به پژوهش‌های بیشتر به ویژه در نمونه انسانی می‌باشد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مطالعه از همکاران بخش آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافع در این مطالعه ندارند.

REFERENCES

1. Mohammadi E, Aminorroaya A, Fattahi N, Azadnajafabad S, Rezaei N, Farzi Y, et al. Epidemiologic pattern of cancers in Iran; current knowledge and future perspective. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* 2021; 20(1): 825-9.
2. Fuller JT, Hartland MC, Maloney LT, Davison K. Therapeutic effects of aerobic and resistance exercises for cancer survivors: a systematic review of meta-analyses of clinical trials. *British Journal of Sports Medicine* 2018; 52(20): 1311.
3. Liu R, Page M, Solheim K, Fox S, Chang SM. Quality of life in adults with brain tumors: current knowledge and future directions. *Neuro-oncology* 2009; 11(3): 330-9.
4. Panel E. American college of sports medicine roundtable on exercise guidelines for cancer survivors. *J ACSM* 2010; 42: 1409-26.
5. Capozzi LC, Boldt KR, Easaw J, Bultz B, Culos-Reed SN. Evaluating a 12-week exercise program for brain cancer patients. *Psychooncology* 2016; 25(3): 354-8.
6. Suhett LG, de Miranda Monteiro Santos R, Silveira BKS, Leal ACG, de Brito ADM, de Novaes JF, et al. Effects of curcumin supplementation on sport and physical exercise: a systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2021; 61(6): 946-58.
7. Bhat A, Mahalakshmi AM, Ray B, Tuladhar S, Hediya TA, Manthiannem E, et al. Benefits of curcumin in brain disorders. *BioFactors* 2019; 45(5): 666-89.
8. Osali A. Aerobic exercise and nano-curcumin supplementation improve inflammation in elderly females with metabolic syndrome. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2020; 12: 1-7.
9. Cheragh-Birjandi S, Moghbeli M, Haghighi F, Safdari MR, Baghernezhad M, Akhavan A, et al. Impact of resistance exercises and nano-curcumin on synovial levels of collagenase and nitric oxide in women with knee osteoarthritis. *Translational Medicine Communications* 2020; 5: 1-6.
10. Ababd ZVM, Chaman NH, Hosseini M, Maleki A. Aerobic Exercise and Nano-curcumin Supplementation Prevent cancer symptom development through MAPK/ERK pathway. *Research square*, 2023.
11. Del Prado-Audelo ML, Caballero-Florán IH, Meza-Toledo JA, Mendoza-Muñoz N, González-Torres M, Florán B, et al. Formulations of curcumin nanoparticles for brain diseases. *Biomolecules* 2019; 9(2): 56.
12. van de Wetering M, Oosterwegel M, Dooijes D, Clevers H. Identification and cloning of TCF-1, a T lymphocyte-specific transcription factor containing a sequence-specific HMG box. *The EMBO Journal* 1991; 10(1): 123-32.
13. Weber BN, Chi AWS, Chavez A, Yashiro Ohtani Y, Yang Q, Shestova O, et al. A critical role for TCF-1 in T-lineage specification and differentiation. *Nature* 2011; 476(7358): 63-8.
14. Raghu D, Xue H-H, Mielke LA. Control of lymphocyte fate, infection, and tumor immunity by TCF-1. *Trends in Immunology* 2019; 40(12): 1149-62.
15. Pećina-Šlaus N, Kafka A, Tomas D, Marković L, Okštajner PK, Sukser V, et al. Wnt signaling transcription factors TCF-1 and LEF-1 are upregulated in malignant astrocytic brain tumors. *Histology and Histopathology* 2014; 29(12): 1557-64.
16. Jaafari S, Abbaszadeh H, Farzanegi P, Zamani L. Investigating the effect of swimming exercise and vitamin D consumption on B-catenin/TCF signaling pathway in endometriosis model rats. *Journal of Physiology of Movement & Health* 2023; 3(1): 127-36.
17. Tiwari SK, Agarwal S, Seth B, Yadav A, Nair S, Bhatnagar P, et al. Curcumin-loaded nanoparticles potentially induce adult neurogenesis and reverse cognitive deficits in Alzheimer's disease model via canonical Wnt/ β -catenin pathway. *ACS Nano* 2014; 8(1): 76-103.
18. Mills CN, Newsheer S, Bonner JA, Yang ES. Emerging roles of glycogen synthase kinase 3 in the treatment of brain tumors. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 2011; 4: 47.
19. Peng Y, Chi R, Liu G, Tian W, Zhang J, Zhang R. Aerobic Exercise regulates apoptosis through the pi3k/akt/gsk-3 β signaling pathway to improve cognitive impairment in alzheimer's disease mice. *Neural Plasticity* 2022; 10(1): 1-12.
20. Zang J, Liu Y, Li W, Xiao D, Zhang Y, Luo Y, et al. Voluntary exercise increases adult hippocampal neurogenesis by increasing GSK-3 β activity in mice. *Neuroscience* 2017; 354: 122-35.
21. Sarawi WS, Alhusaini AM, Fadda LM, Alomar HA, Albaker AB, Aljrboa AS, et al. Curcumin and nano-curcumin mitigate copper neurotoxicity by modulating oxidative stress, inflammation, and akt/gsk-3 β signaling. *Molecules* 2021; 26(18): 5591.
22. Swanson LW. *Brain maps: structure of the rat brain*: Gulf Professional Publishing; 2004.

23. Al Jarrah M, Matalka I, Al Aseri H, Mohtaseb A, Smirnova IV, Novikova L, et al. Exercise training prevents endometrial hyperplasia and biomarkers for endometrial cancer in rat model of type 1 diabetes. *Journal of Clinical Medicine Research* 2010; 2(5): 207.
24. Shamsi MM, Mahdavi M, Quinn L, Gharakhanlou R, Isanegad A. Effect of resistance exercise training on expression of Hsp70 and inflammatory cytokines in skeletal muscle and adipose tissue of STZ-induced diabetic rats. *Cell Stress and Chaperones* 2016; 21(5): 783-91.
25. Vijayakurup V, Thulasidasan AT, Shankar GM, 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.
26. Kafka A, Bačić M, Tomas D, Žarković K, Bukovac A, Njirić N, et al. Different behaviour of DVL 1, DVL 2, DVL 3 in astrocytoma malignancy grades and their association to TCF 1 and LEF 1 upregulation. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2019; 23(1): 641-55.
27. Mazumdar J, Dondeti V, Simon MC. Hypoxia-inducible factors in stem cells and cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2009; 13(11-12): 4319-28.
28. Mazumdar J, O'Brien WT, Johnson RS, LaManna JC, Chavez JC, Klein PS, et al. O₂ regulates stem cells through Wnt/ β -catenin signalling. *Nature Cell Biology* 2010; 12(10): 1007-13.
29. Rampazzo E, Persano L, Pistollato F, Moro E, Frasson C, Porazzi P, et al. Wnt activation promotes neuronal differentiation of glioblastoma. *Cell Death & Disease* 2013; 4(2): e500.
30. Lee Y, Lee J-K, Ahn SH, Lee J, Nam D-H. WNT signaling in glioblastoma and therapeutic opportunities. *Laboratory Investigation* 2016; 96(2): 137-50.
31. Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes & Development* 2000; 14(15): 1837-51.
32. Hajra KM, Fearon ER. Cadherin and catenin alterations in human cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer* 2002; 34(3): 255-68.
33. Hojman P, Gehl J, Christensen JF, Pedersen BK. Molecular mechanisms linking exercise to cancer prevention and treatment. *Cell Metabolism* 2018; 27(1): 10-21.
34. Koelwyn GJ, Quail DF, Zhang X, White RM, Jones LW. Exercise-dependent regulation of the tumour microenvironment. *Nature Reviews Cancer* 2017; 17(10): 620-32.
35. Li Q, Hua Y, Yang Y, He X, Zhu W, Wang J, et al. T cell factor 7 (TCF7)/TCF1 feedback controls osteocalcin signaling in brown adipocytes independent of the wnt/ β -catenin pathway. *Molecular and Cellular Biology* 2018; 25(1): 1-10.
36. Woods JA, Wilund KR, Martin SA, Kistler BM. Exercise, inflammation and aging. *Aging and Disease* 2012; 3(1): 130.
37. Zhang J, Lyu T, Cao Y, Feng H. Role of TCF-1 in differentiation, exhaustion, and memory of CD8⁺ T cells: A review. *The FASEB Journal* 2021; 35(5): e21549.
38. Lee DS, Lee MK, Kim JH. Curcumin induces cell cycle arrest and apoptosis in human osteosarcoma (HOS) cells. *Anticancer Research* 2009; 29(12): 5039-44.
39. Sa G, Das T. Anti cancer effects of curcumin: cycle of life and death. *Cell Division* 2008; 3: 1-14.
40. Miyashita K, Kawakami K, Nakada M, Mai W, Shakoori A, Fujisawa H, et al. Potential therapeutic effect of glycogen synthase kinase 3 β inhibition against human glioblastoma. *Clinical Cancer Research* 2009; 15(3): 887-97.
41. Embi N, Rylatt DB, Cohen P. Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle: Separation from cyclic-AMP-dependent protein kinase and phosphorylase kinase. *European Journal of Biochemistry* 1980; 107(2): 519-27.
42. Lee J, Kim MS. The role of GSK3 in glucose homeostasis and the development of insulin resistance. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2007; 77(3): S49-57.
43. Rousset M, Chevalier G, Rousset JP, Dussaulx E, Zweibaum A. Presence and cell growth-related variations of glycogen in human colorectal adenocarcinoma cell lines in culture. *Cancer Research* 1979; 39(2_Part_1): 531-4.
44. Demarchi F, Bertoli C, Sandy P, Schneider C. Glycogen synthase kinase-3 β regulates NF- κ B1/p105 stability. *Journal of Biological Chemistry* 2003; 278(41): 39583-90.
45. Gregory MA, Qi Y, Hann SR. Phosphorylation by glycogen synthase kinase-3 controls c-myc proteolysis and subnuclear localization. *Journal of Biological Chemistry* 2003; 278(51): 51606-12.
46. Sharma AK, Kumar A, Sahu M, Sharma G, Datusalia AK, Rajput SK. Exercise preconditioning and low dose copper nanoparticles exhibits cardioprotection through targeting GSK-3 β phosphorylation in ischemia/reperfusion induced myocardial infarction. *Microvascular Research* 2018; 120: 59-66.

47. Xiao CI, Zhong ZP, Lü C, Guo BJ, Chen JJ, Zhao T, et al. Physical exercise suppresses hepatocellular carcinoma progression by alleviating hypoxia and attenuating cancer stemness through the Akt/GSK-3 β / β -catenin pathway. *Journal of Integrative Medicine* 2023; 21(2): 184-93.
48. Huang Q, Wu M, Wu X, Zhang Y, Xia Y. Muscle-to-tumor crosstalk: The effect of exercise-induced myokine on cancer progression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* 2022: 188761.
49. McCubrey JA, Lertpiriyapong K, Steelman LS, Abrams SL, Cocco L, Ratti S, et al. Regulation of GSK-3 activity by curcumin, berberine and resveratrol: Potential effects on multiple diseases. *Advances in Biological Regulation* 2017; 65: 77-88.
50. Beltagy DM, Nawar NF, Mohamed TM, Tousson E, El-Keey MM. The synergistic effect of nanocurcumin and donepezil on Alzheimer's via PI3K/AKT/GSK-3 β pathway modulating. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 2024; 170: 106791.
51. Wang W, Li M, Wang L, Chen L, Goh BC. Curcumin in cancer therapy: Exploring molecular mechanisms and overcoming clinical challenges. *Cancer Letters* 2023; 570(1): 1-10.

The Effect of Combined Exercise and Curcumin Supplementation on TCF-1 and GSK3 β Gene Expression in the Brains of Rats with Glioblastoma Multiforme

Afshar Yousefi S¹, Kazemzadeh Y^{1*}, Shirvani H², Mirzayan Shanjani S¹

¹Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran, ²Exercise Physiology Research Center, Lifestyle Research Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 26 Jan 2024 Accepted: 09 Sep 2024

Abstract

Background & aim: Lifestyle modification and the use of nanotechnology are considered therapeutic strategies for cancers. Therefore, the aim of the present study was to determine the effect of combined exercise and curcumin supplementation on the expression of T cell factor 1 (TCF-1) and glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3 β) genes in the brains of mice with glioblastoma multiforme.

Methods: In the present experimental study conducted in 2023 at the Islamic Azad University, 40 male Wistar rats were divided into 5 healthy control groups, glioblastoma multiforme (GBM), GBM+ combined training (CT), GBM+ nanocurcumin supplement (N-CUR) and GBM+CT+N-CUR (8 rats in each group). Glioblastoma was injected into the frontal cortex of rat. Exercise training was performed for 4 weeks and 3 days per week as a combination of aerobic and resistance training. Nano curcumin supplement was gavage with a dose of 80 mg/kg for 4 weeks, 5 days per week. At the end, rats sacrificed and TCF-1 and GSK3 β genes of brain glioblastoma were analyzed by Real-time PCR method. The collected data were analyzed using Shapiro-Wilk, Levin, one-way analysis of variance, Tukey's post hoc test and Pearson correlation.

Results: The results of the present study indicated that the expression of TCF1 mRNA and GSK3 β mRNA in the brain tumor tissue of rats showed a significant increase compared to the healthy control group ($p < 0.0001$ for both). However, compared to the GBM group, all the treatment groups, especially the GBM+CT+N-CUR group, indicated a significant decrease in the expression of TCF1 mRNA and GSK3 β mRNA in the brain tumor tissue ($p < 0.05$). The correlation between these two factors was not confirmed in different research groups ($p > 0.05$). Based on histological image, tumor induction caused tissue integrity destruction and the level of inflammatory factors and lymphocytes infiltration in this tissue also expanded. However, exercise training and nano curcumin supplementation led to control of tumor tissue damage and reduction of tumor tissue, and these changes were greater in combination therapy.

Conclusion: It seemed that the combination of exercise and Nano curcumin supplement could be an effective treatment method in down regulation of some effective genes in brain tumor tissue. Therefore, they can be used during the recovery period or cancer treatment with the doctor's order. However, in this field, more studies are needed, especially in human samples.

Keywords: Combined exercise, Brain tissue, Glioblastoma, Curcumin

*Corresponding author: Kazemzadeh Y, Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran.

Email: yaser.kazemzadeh@yahoo.com

Please cite this article as follows: Afshar Yousefi S, Kazemzadeh Y, Shirvani H, Mirzayan Shanjani S. The Effect of Combined Exercise and Curcumin Supplementation on TCF-1 and GSK3 β Gene Expression in the Brains of Rats with Glioblastoma Multiforme. Armaghane-danesh 2024; 29(5): 657-675.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal