

تاثیر یک دوره شنای زیر بیشینه بر بیان ژن مبدل و فعال کننده پیام رونویسی-۳ ریه رت های ویستار متعاقب کارسینوژن نیتروز آمین کتون مشتق از تنباکو (NNK)

محمدباقر نیکزاد^۱، شادمهر میردار^{۲*}

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران. هیئت علمی دروس عمومی دانشگاه علم و فناوری مازندران، بهشهر، ایران.
۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: تصور بر این است که برنامه های ورزشی دارای حداقل تاثیر بر تغییرات پاتولوژیکی بافت ریه ای هستند که در معرض مواد سرطان زای ناشی از دود سیگار قرار دارند. هدف از پژوهش حاضر، مطالعه تاثیر ۱۲ هفته تمرین زیربیشینه شنا بر بیان مبدل و فعال کننده پیام رونویسی-۳ بافت ریه ها متعاقب کارسینوژن نیتروز آمین کتون مشتق از تنباکو (NNK) بود. **روش تحقیق:** تعداد ۴۶ سر رت ویستار با میانگین وزنی $105/84 \pm 27/93$ گرم به ۵ گروه شامل گروه های تمرین (E)، تمرین-NNK (E.N)، NNK (N)، کنترل (C)، و حلال (V) تقسیم شدند. گروه های تمرین، تمرینات زیربیشینه شنا را به مدت ۱۲ هفته، ۵ روز در هفته با شدت جریان آب ۴ تا ۱۰ لیتر بر دقیقه، و مدت ۶۰-۲۵ دقیقه انجام دادند. به رت های گروه حلال و NNK به ترتیب آب مقطر و NNK به میزان ۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت زیرپوستی به مدت ۱۲ هفته و یک بار در هفته تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و تزریق، رت ها قربانی شدند و نمونه های بافتی ریه برداشته و در دمای -70°C جهت مقایسه داده ها از آزمون پارامتریک مبدل و فعال کننده پیام رونویسی-۳ به روش Real time PCR-ABI اندازه گیری گردید. جهت مقایسه داده ها از آزمون پارامتریک آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $p < 0/05$ استفاده گردید. **یافته ها:** افزایش معنی داری در بیان ژن STAT3 در گروه NNK نسبت به دو گروه E ($p = 0/001$) و E.N ($p = 0/002$) مشاهده شد. در حالی که بین گروه های تمرینی و گروه کنترل هیچ تفاوت معنی داری دیده نشد ($p < 0/05$). **نتیجه گیری:** تمرینات ورزشی زیر بیشینه می تواند به عنوان مکمل تمرینی در کنار سایر روش های درمانی، جهت کاهش عوامل اصلی مسیرهای منتهی به تومور مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: تمرینات زیر بیشینه، مبدل و فعال کننده پیام رونویسی-۳، کارسینوژن نیتروز آمین کتون مشتق از تنباکو.

*نویسنده مسئول، آدرس: بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم ورزشی؛

مقدمه

مسیر پیام دهی STAT3 و دخالت IL-6 است (میلر و دیگران، ۲۰۱۵).

در رابطه با نقش فعالیت های ورزشی در مقابله با کارسینوزن ها، بیشتر مطالعات همه گیرشناسی انجام شده در حوزه مطالعاتی ورزش- سرطان^۱ نشان می دهند که تمرینات منظم ورزشی می تواند سبب افزایش بقای بیماران سرطانی و کاهش میزان مرگ و میر ناشی از سرطان ها شود (کروجسین جارسم^۱ و دیگران، ۲۰۱۳). با این وجود، سازوکارهای احتمالی چگونگی تاثیر فعالیت های بدنی و ورزشی در پیشگیری از این بیماری ها، به درستی شناسایی نشده است. اگر چه در زمینه تاثیر همزمان فعالیت های ورزشی زیربیشینه و القای کارسینوزن NNK بر مسیر منتهی به تومور STAT3 مطالعه ای انجام نشده است، اما در زمینه تاثیر مثبت فعالیت های بدنی در افراد قرار گرفته در مجاورت با دود سیگار، لتزمن^{۱۱} و دیگران (۲۰۰۹) نشان دادند که فعالیت بدنی از طریق افزایش تهویه، باعث کاهش مدت زمان مجاورت کارسینوزن های موجود در سیگار با بافت ریه می شود و از این طریق، تاثیرات مخرب آن ها را کاهش می دهد. در مطالعه مذکور، کاهش آسیب DNA (به دلیل کاهش استرس اکسایشی) و افزایش ظرفیت ترمیم DNA در نتیجه فعالیت بدنی منظم، به عنوان دو عامل کلیدی مطرح شد که می تواند خطر ابتلا به انواع سرطان ریه را کاهش دهد (لتزمن و دیگران، ۲۰۰۹). یو^{۱۲} و دیگران (۲۰۱۲) نیز در تحقیقی انجام شده بر روی موش های در معرض دود سیگار و انجام تمرینات ورزشی، به این نتیجه رسیدند که قرار گرفتن در معرض دود سیگار می تواند منجر به التهاب ریوی ناشی از فعال شدن میانجی های التهابی شود؛ اما انجام تمرینات ورزشی می تواند تا حد زیادی نقش محافظتی و پیشگیرانه در برابر این التهاب داشته باشد.

در مورد خصلت ضدالتهابی تمرینات ورزشی نیز برخی

سرطان از مهم ترین علل مرگ و میر رو به افزایش در جهان است. آنچه امروزه سرطان را به عنوان یک معضل بهداشتی جهانی مطرح می کند، رشد صعودی تعداد مبتلایان به این بیماری است. در میان انواع مختلف سرطان ها، سرطان ریه یکی از عمده ترین موارد سرطان ها به شمار می رود که سالانه تعداد زیادی از افراد در اثر این بیماری فوت می کنند (جمال^۱ و دیگران، ۲۰۱۱). علی رغم پیشرفت های تاثیر گذار در شناخت آسیب زایی یا پاتوژنز^۲ مولکولی سرطان های وراثتی، می توان گفت که عوامل محیطی مانند دود سیگار علت اصلی سرطان ریه است که تا حدود ۹۰٪ به عنوان دلیل اصلی این بیماری به شمار می رود (میلر^۳ و دیگران، ۲۰۱۵). دود سیگار حاوی بیش از ۶۰ کارسینوزن است که در میان این کارسینوزن ها، نیتروزآمین کتون مشتق از تنباکو^۴ (NNK)

قوی ترین کارسینوزن به شمار رفته و ارتباط معنی داری با سرطان ریه دارد (هچت^۵، ۲۰۰۳). مطالعات انجام شده در مدل های حیوانی نشان می دهد که روش شناسی های مختلف و دوزهای متفاوت NNK می تواند منجر به تولید سرطان های ریه بدخیم در میان انواع گونه ها شود (جی^۶ و دیگران، ۲۰۱۵). در رابطه با تاثیرات منفی کارسینوزن های دود سیگار مانند NNK و فعالیت برخی فرآورده های اصلی مسیره های پیام دهی منتهی به تومورزایی مانند STAT3، برخی یافته ها نشان می دهد که NNK می تواند موجب بیان STAT3 در سلول های سرطان غیر کوچک ریه شود. در میان خانواده سایتوکاین ها^۷، میزان اینترلوکین-۶ (IL-6) به طور ویژه ای همراه با افزایش NNK در مدل های انسانی و آزمایشگاهی، بالا می رود. در پاسخ به دود سیگار و افزایش سایتوکاین پیش التهابی IL-6 در بافت ریه بیماران، عامل رونویسی STAT3 نیز افزایش می یابد. بنابراین، یکی از سازوکارهای کلیدی التهابی که توسط آن NNK سبب اثرات کارسینوزنیک خود می شود،

1. Jemal

2. Pathogenesis

3. Miller

4. 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)

5. Hecht

6. Ge

7. Cytokines

8. Inter Leukin 6

9. Exercise – Oncology

10. Kruijsen-Jaarsma

11. Leitzmann

12. Yu

استاندارد پلت و آب به صورت آزاد در اختیار رت ها قرار داشت. هفته اول، جهت سازگاری با محیط آزمایشگاه و هفته دوم جهت آشنایی با تمرین شنا در نظر گرفته شد. رت ها به صورت تصادفی به ۴ گروه (۱۰ تایی شامل: الف) گروه تمرینی (E)،^۱ (ب) گروه NNK (N)،^۲ (ج) گروه تمرین-NNK (E.N)،^۳ (د) گروه حلال با تزریق آب مقطر (V)^۴؛ و یک گروه ۶ تایی به عنوان گروه کنترل (C) تقسیم شدند.

پروتکل تمرینی بر اساس پروتکل میردار و دیگران (۲۰۱۲) طراحی گردید. بر اساس این پروتکل، به منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، رت ها در طی یک هفته به مدت ۱۰ الی ۳۰ دقیقه در داخل استخر آب قرار گرفتند. تمرین شنا در گروه‌های E و E.N به صورت یک بار در روز (۵ روز در هفته)، در یک مخزن آب به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۰۰ سانتی متری با درجه حرارت ۳۲-۳۰ درجه سانتی گراد در طی ۳ ماه به اجرا درآمد. اضافه بار تمرینی از طریق تنظیم سرعت و قدرت آب هنگام شنا اعمال گردید. مدت زمان تمرین در آب پس از سازگاری با آب در روز اول تمرین، ۲۵ دقیقه بود که با افزایش هفتگی ۵ دقیقه، این مدت در هفته هشتم به ۶۰ دقیقه رسید و سپس این زمان تا پایان هفته ۱۲ تثبیت شد و ادامه یافت. سرعت آب نیز از ۴ لیتر در دقیقه شروع شد و تا ۱۰ لیتر بر دقیقه تا پایان پروتکل تمرینی (جدول ۱) ادامه یافت (میردار و دیگران، ۲۰۱۲). تزریق NNK در گروه E.N و گروه N، به صورت زیر جلدی یک بار در هفته، به میزان ۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مدت ۱۲ هفته انجام شد و به گروه حلال نیز آب مقطر تزریق گردید (لائو^۵ و دیگران، ۲۰۰۷). چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و تزریق NNK، موش ها پس از بی هوش شدن با محلول زایلازین^۶ و کتامین^۷، قربانی شدند و بافت ریه آن ها بلافاصله در ازت مایع فریز شد و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید و جهت انجام ادامه مراحل استخراج RNA به آزمایشگاه فرستاده شد.

مطالعات نشان داده اند که تمرینات ورزشی زیربیشینه دارای ویژگی ضدالتهابی هستند و سبب کاهش التهاب می شوند، ولی این ویژگی ضدالتهابی، بر مسیرهای پیام دهی انکوژنی متاثر از برخی کارسینوژن‌های دود سیگار مانند NNK، قاطع و قانع کننده نیست. با وجود مطالعات انجام شده در زمینه فعالیت‌های بدنی و ورزشی و خطر سرطان ریه که به طور عمده به بررسی رابطه بین اجرای فعالیت بدنی با خطر بروز سرطان ریه در افراد سیگاری یا در معرض دود تنباکو پرداخته‌اند، اطلاعات موجود در مورد سازوکارهای احتمالی تاثیر فعالیت ورزشی در تعدیل خطر بروز سرطان ریه در افراد سیگاری یا در معرض دود تنباکو و مشتقات آن؛ اندک است. از این رو، با توجه به یافته‌های یاد شده مبنی بر افزایش STAT3 در اثر مواد کارسینوژنیک مانند NNK، این پرسش مطرح است که آیا تمرینات ورزشی زیربیشینه شنا می تواند مسیر انکوژنیک التهابی STAT3 به وجود آمده از طریق NNK را از طریق مهار انکوژن STAT3 مهار نماید؟ با توجه به محوریت بافت ریه در بحث تنفسی و استعمال دخانیات از یک سو و اهمیت فعالیت ورزشی در کاهش خطر ابتلا به سرطان از سوی دیگر، سازوکارهای ارتباط فعالیت ورزشی با عوامل مورد مطالعه در این تحقیق در بافت ریه رت هایی که در معرض کارسینوژن سیگار (NNK) قرار گرفته‌اند، می تواند اطلاعات مفیدی در باره چگونگی تاثیر فعالیت ورزشی و اثرگذاری بر یکی از شاخص های کارسینوژنیک ریه را ارائه دهد.

روش تحقیق

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود. تعداد ۴۶ سر رت های نژاد ویستار^۱ بالغ با میانگین وزنی ۲۷/۹۳±۱۰۵/۸۴ گرم، خریداری شد و به صورت جداگانه در قفس های پلی کربنات شفاف (هر ۴ رت در یک قفس) تحت شرایط آزمایشگاهی ۲۲±۱/۴ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۵۵±۵ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته قرار گرفتند. غذای

1. Wistar
2. Exercise
3. Exercise - NNK
4. Vehicle

5. Lao
6. Xylazine
7. Ketamine

جدول ۱. پروتکل تمرینی شنای زیر بیشینه از هفته اول تا دوازدهم

زمان تمرین (دقیقه)	سرعت آب (لیتر بر دقیقه)	هفته ها	زمان تمرین (دقیقه)	سرعت آب (لیتر بر دقیقه)	هفته ها
۵۵	۶	هفتم	۲۵	۴	اول
۶۰	۶	هشتم	۳۰	۴	دوم
۶۰	۷	نهم	۳۵	۴	سوم
۶۰	۸	دهم	۴۵	۴	چهارم
۶۰	۹	یازدهم	۵۰	۴	پنجم
۶۰	۱۰	دوازدهم	۵۵	۵	ششم

سانتی گراد انجام شد و از GADPH^۴ به عنوان ژن مرجع STAT3 استفاده گردید (جدول ۲). در کل فرآیند تحقیق، اصول اخلاق تحقیق، منطبق با آیین نامه کمیته اخلاقی پژوهش دانشگاه مازندران رعایت شد (کد اخلاق: MUBABOL.HRI.REC.1395.109).

بر اساس پروتکل ترایزول^۱، مراحل استخراج RNA انجام شد. جهت سنتز cDNA ژن STAT3 طبق دستورالعمل کیت^۲ شرکت ترموساینترفیک آمریکا^۳ عمل شد. ابتدا غلظت مطلوب cDNA با استفاده از آزمون سریال غلظت مشخص شد. چرخه‌های واکنشی Real-time PCR برای ژن STAT3 با برنامه حرارتی Real-time PCR-ABI با دو دمای ۹۵ و ۶۰ درجه

جدول ۲. توالی ژن STAT3 و ژن مرجع مورد استفاده

Gene	Primer Forward	Primer Reverse	NCBI
STAT3	ACCAACGACCTGCAGCAATA	ACACTCCGAGGTCAGATCCA	ID25125
GAPDH	AAGTTC AACGGCACAGTCAAGG	CATACTCAGCACCAGCATCACC	ID24383

گروه تمرین و گروه کنترل و نیز گروه تمرین و حلال معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). همچنین در مقایسه بین گروه تمرین-NNK و دو گروه کنترل ($p = 1/00$) و حلال ($p = 1/00$) نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۵). مقایسه بین دو گروه تمرین و تمرین-NNK نشان داد که بین این دو گروه نیز تفاوت معنی‌داری ($p = 0/93$) وجود ندارد؛ در حالی که میزان بیان ژن STAT3 در گروه NNK نسبت به گروه تمرین ($p = 0/003$) و گروه تمرین-NNK ($p = 0/02$)؛ به طور معنی‌دار بالاتر بود. همچنین، افزایش معنی‌دار این شاخص در گروه NNK نسبت به دو گروه کنترل ($p = 0/04$) و حلال ($p = 0/02$) مشاهده شد (جدول ۵ و شکل ۱).

نتایج به دست آمده (بیان ژن) بر اساس فرمول پافل^۵ و نرم‌افزار Excel مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ استفاده شد. بررسی طبیعی بودن توزیع متغیرها با آزمون کلموگروف-اسمیرنوف^۶ انجام گردید. با توجه به طبیعی بودن داده‌ها، از آزمون پارامتریک تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی^۷ در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ بهره برداری شد.

یافته‌ها

یافته‌های توصیفی تحقیق حاضر در جدول ۳ نشان داده شده است. بین میانگین بیان ژن STAT3 در ۵ گروه تفاوت معنی‌داری ($F = 4/753, p = 0/003$) مشاهده شد (جدول ۴). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، میزان بیان ژن STAT3 بین

1. Trizol
2. K1622 for 100 reactions
3. cDNA Synthesis Kits—Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit
4. GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

5. Paffel formula
6. Kolmogorov-Smirnov test
7. Tukey

جدول ۳. توصیف شاخص ها در گروه های مورد مطالعه

گروه ها متغیرها	کنترل	حلال	NNK	تمرین	تمرین + NNK
وزن اولیه (گرم)	۱۰۲/۵۳ ± ۱۲/۸۰	۱۰۳/۶۷ ± ۱۰/۲۳	۱۰۶/۷۴ ± ۲۰/۱۶	۱۰۱/۴۸ ± ۳۲/۶۳	۱۱۱/۳۳۱ ± ۳۶/۵۶
وزن نهایی (گرم)	۲۴۹/۵۷ ± ۲۳/۸۱	۲۵۹/۵۵ ± ۳۹/۳۶	۲۸۵/۶۰ ± ۷۰/۴۹	۲۷۲/۸۱ ± ۶۷/۳۵	۲۷۴/۳۳ ± ۶۱/۸۲
قد (سانتی متر)	۲۰/۶۴ ± ۱/۱۲	۲۰/۹۸ ± ۱/۵۴	۲۲/۷۴ ± ۱/۴۵	۲۲/۲۸ ± ۱/۶۳	۲۲/۱۳ ± ۱/۳۵
وزن ریه (گرم)	۰/۷۵ ± ۰/۱۳	۱/۳۲ ± ۰/۱۶	۱/۶۸ ± ۰/۲۵	۱/۸۷ ± ۰/۳۲	۱/۷۴ ± ۰/۴۶
حجم ریه (میلی لیتر)	۰/۸۶ ± ۰/۳۸	۰/۷۸ ± ۰/۱۵	۰/۸۳ ± ۰/۱۱	۰/۹۴ ± ۰/۲۱	۱/۳۷ ± ۰/۴۴

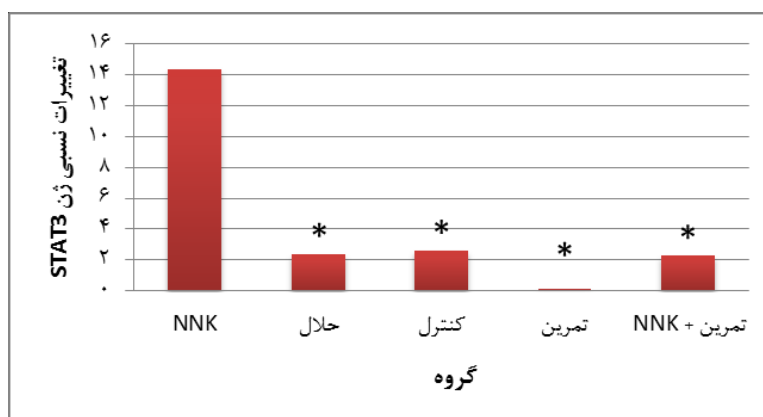
جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه

منابع تغییر	مجموع مجدورات	درجات آزادی	میانگین مجدورات (واریانس)	مقدار F	p
بین گروه ها	۱۳۵۱/۸۷	۴	۳۳۷/۹۷	۴/۷۳	۰/۰۰۳
درون گروه ها	۲۹۲۶/۴۳	۴۱	۷۱/۳۷		

* نشانه تفاوت معنی دار در سطح $p \leq 0.05$.

جدول ۵. نتایج آزمون توکی در خصوص مقایسه زوجی گروه ها

گروه ها	میانگین ± انحراف استاندارد	p
NNK	حلال	۱۲/۱۷ ± ۲/۸۱
	کنترل	۱۲/۵۶ ± ۳/۲۴
	تمرین	۱۴/۸۰ ± ۲/۸۱
	تمرین - NNK	۱۱/۸۷ ± ۲/۸۱
تمرین - NNK	حلال	۰/۳۰ ± ۲/۸۱
	کنترل	۰/۶۹ ± ۳/۲۴
	تمرین	۲/۹۳ ± ۲/۸۱
تمرین	حلال	-۲/۶۶ ± ۳/۸۱
	کنترل	-۲/۲۳ ± ۳/۲۴

* نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح $p \leq 0.05$.شکل ۱. مقایسه بیان ژن STAT3 در گروه های تحقیق. تفاوت معنی دار با گروه NNK در سطح $p \leq 0.05$.

بحث

در ۶۵-۲۲ درصد در سرطان ریه فعال می شود. در خصوص سازوکارهای های تاثیر حفاظتی تمرین در مقابل کارسینوژن های محیطی، می توان به دو عامل اصلی تاثیر فعالیت های بدنی به خصوص استقامتی یا زیر بیشینه، یعنی کاهش التهاب مزمن و بهبود سیستم ایمنی اشاره کرد (جنسن^۴ و دیگران، ۲۰۱۴)؛ تغییراتی که سبب کاهش تاثیر کارسینوژن ها می شوند (کوزنز و ورب^۵، ۲۰۰۲).

مطابق جدول ۵، تزریق NNK در گروه NNK سبب افزایش معنی دار بیان ژن STAT3 در مقایسه با گروه های حلال، کنترل، تمرینی و تمرین-NNK شد. در این راستا، دیگر محققین نشان داده اند که تزریق NNK در مدل های انسانی و آزمایشگاهی، با کاهش ژن های سرکوب گر تومور و افزایش انکوژن هایی نظیر STAT3 همراه است. این محققین بیان می کنند که پیش تومورزایی ناشی از NNK، سبب افزایش انکوژن STAT3 و افزایش تکثیر سلولی و در نهایت، سرطان ریه می شود (میلر و دیگران، ۲۰۱۵). برخی نیز نشان داده اند که قرارگیری ۱۲ هفته ای موش های نر در معرض دود سیگار، سبب افزایش انکوژن STAT3 می شود (هالاپاناور^۶ و دیگران، ۲۰۰۹). نتایج این تحقیق با یافته های تحقیق انجام شده در خصوص تاثیر NNK و افزایش انکوژن STAT3 همخوانی دارد. به عبارت دیگر، در جریان قرارگیری سلول های طبیعی در شرایط کارسینوژن های محیطی نظیر NNK، عملکرد ژن های سرکوب کننده تومور و بیان ژن های انکوژنی مختل می شود. عامل STAT3 انکوژنی است که بر اثر کارسینوژن هایی نظیر NNK به خصوص در بافت ریه افزایش می یابد. لذا پیشرفت سلول های طبیعی به سمت سلول های غیر طبیعی و سرطانی افزایش می یابد و مسیرهای پیام دهی خارج سلولی بر فعالیت سرکوب کننده های تومور و انکوژن ها اثر می گذارد (سیوین^۷ و دیگران، ۲۰۱۴). اگر چه در مطالعه حاضر نشان داده شد که NNK به عنوان یکی از اجزای اصلی دود سیگار می تواند مسیر منتهی به تومور STAT3 را فعال کند، این سوال نیاز به بررسی دارد که آیا همزمان با فعال شدن این مسیر، امکان مهار آن از طریق فعالیت ورزشی زیر

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۱۲ هفته تمرین شنای زیربیشینه موجب مهار بیان ژن STAT3 در گروه های تمرینی شد. مقایسه بیان ژن STAT3 در دو گروه تمرینی با گروه NNK نشان داد که افزایش معنی داری در تغییرات نسبی ژن STAT3 در گروه NNK نسبت به دو گروه تمرینی بوجود آمده است؛ در حالی که هیچ تفاوت معنی داری بین گروه های تمرینی و گروه کنترل و حلال مشاهده نشد (جدول ۵). این نتایج حاکی از اثرات مثبت تمرینات زیر بیشینه شنا در سطح بافت ریه قرار گرفته در معرض کارسینوژن NNK می باشد. با توجه به وجود افزایش بیان ژن STAT3 در گروه NNK نسبت به گروه های تمرینی و عدم تفاوت معنی دار بین گروه تمرینی و دو گروه کنترل و تمرین-NNK؛ می توان ادعا کرد که تمرینات زیربیشینه در مهار انکوژن STAT3 موثر بوده است. مهارکننده هایی وجود دارند که از طریق مهار مسیر IL-6 و STAT3 می توانند فعالیت STAT3 را سرکوب کنند. لونز^۱ و دیگران (۲۰۰۸) در مطالعه خود نشان داده اند که تمرینات استقامتی تا حدودی می تواند سبب تغییر برخی از عوامل انکوژنی و مسیرهای پیام دهی متأثر از کارسینوژن ها شود. بنابراین کاهش در بیان انکوژن STAT3 متأثر از کارسینوژن های محیطی نظیر NNK از طریق تمرینات زیربیشینه استقامتی، به عنوان یکی از سازوکارهای موثر تمرینات ورزشی استقامتی به شمار می رود. اگر چه در زمینه انجام تمرینات استقامتی در زمینه مهار نقش کارسینوژنی NNK بر انکوژن STAT3 یافته ها اندک است، ولی نشان داده شده که در موش های مبتلا به آسم، تمرینات هوازی با شدت کم می تواند سبب کاهش فنوتیپ آسم و کاهش بیان انکوژن STAT3 شود (ویرا^۲ و دیگران، ۲۰۱۶). در تحقیق حاضر نیز نشان داده شد که تمرینات زیر بیشینه شنا می تواند سبب مهار فعالیت STAT3 شود. موراками^۳ و دیگران (۲۰۱۴) این ژن را به عنوان یکی از ژن های کلیدی در رشد و تکامل، تکثیر و بقای سلول های توموری می دانند که به عنوان میانجی پیام دهی مهمی در بیماری های بدخیم بوده و

1. Lunz
2. Vieira
3. Murakami
4. Jensen

5. Coussens & Werb
6. Halappanavar
7. Siveen

بیشینه وجود دارد؟

سایتوکاین هاست. در این خصوص نقش های متفاوت IL-6 در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک، در مسیرهای پیام دهی بین میوکان ها^۱ و ماکروفاژها بایستی مورد توجه واقع شود، زیرا هر دو نقش IL-6 می تواند منجر به بیان STAT3 در محیط سلول شود؛ در صورتی که اثرگذاری هر نقش در مسیرهای پیام دهی کاملاً متفاوت است. لذا انجام مطالعه بیشتر در مورد تعامل این دو نقش می تواند جالب باشد.

بنابراین به استناد یافته های فوق مبنی بر نقش ضد التهابی تمرینات ورزشی از طریق کاهش سایتوکاین التهابی IL-6 و اثرگذاری این سایتوکاین بر کاهش فاکتور رونویسی STAT3 محتمل است که مهار بیان ژن STAT3 فعال شده از طریق NNK در اثر فعالیت های ورزشی زیر بیشینه، بر اثر کاهش این سایتوکاین پیش التهابی باشد. اگر چه برخی مطالعات نیز نتایج معکوس افزایش شاخص های التهابی را تحت تاثیر فعالیت های ورزشی شدید هوازی گزارش نموده اند (ترتیبیان و ابراهیمی ترکمن، ۲۰۱۶). بنابراین اندازه گیری این سایتوکاین در بافت قرار گرفته در معرض کارسینوزن ها و نوع فعالیت ورزشی، می تواند کمک موثرتری در حصول نتایج مطلوب بنماید. در تعمیم یافته های این تحقیق با شرایط موجود می توان گفت در صورتی که تمرینات دارای شدت متوسط^۲، منظم^۳ و ادامه دار^۴ باشند؛ به احتمال زیاد برخی عوامل اصلی در مسیرهای منتهی به تومور در افراد سیگاری می تواند در اثر انجام فعالیت های ورزشی مهار شود (کروچسین-جارسن، ۲۰۱۳). اگر چه در رابطه بین تمرین، التهاب، عملکرد سیستم ایمنی و کاهش تاثیر کارسینوزن ها؛ نوع تمرین، مدت و شدت آن قابل بحث و بررسی است.

نتیجه گیری: با توجه به محدودیت انجام تحقیق در نمونه های انسانی و انجام این تحقیق در حوزه مطالعات حیوانی، به نظر می رسد انجام تمرینات زیر بیشینه منظم می تواند به عنوان راهکاری مناسب جهت مقابله با کارسینوزن های محیطی نظیر NNK باشد. یافته های این تحقیق می تواند تا حدودی جهت کمک به افرادی که همزمان با استعمال دخانیات مبادرت به انجام فعالیت های ورزشی

به اعتقاد محققین، التهاب مزمن نیروی محرکه تاثیر کارسینوزن ها و بروز سرطان بشمار می رود (کوزنز و رب، ۲۰۰۲). چنانچه در یافته های یو^۱ و دیگران (۲۰۱۴) گزارش شده است که در پاسخ به سایتوکاین های التهابی نظیر IL-6، STAT3 فسفوریله می شود. لئو^۲ و دیگران (۲۰۰۳) نیز نشان داده اند که IL-6 به طور مستقیم سبب فعالیت مبدل سیگنالینگ و فاکتورهای فعال کننده رونویسی STAT3 می شود که می تواند سبب نئوپلازی^۳ و تشکیل تومور گردد. در مورد سازوکار اثر عامل التهابی IL-6 در مسیرهای التهابی، لیپولوز^۴ و دیگران (۲۰۰۹) در تحقیقی بیان نمودند که IL-6 از طریق گیرنده های خود در سطح سلول، سبب فعال شدن انکوژن STAT3 می شود و مهار STAT3، تغییرات مورفولوژیک و کاهش شکل گیری تومور را به همراه دارد. بنابراین فعالیت STAT3 در تغییر شکل سلولی مهم و حیاتی است. اگر چه اندازه گیری سایتوکاین پیش التهابی IL-6 به عنوان محدودیت های اصلی این تحقیق محسوب می شود، اما به استناد یافته های فوق می توان بیان کرد که فعالیت STAT3 می تواند از طریق افزایش عامل پیش التهابی IL-6 باشد. فیشر^۵ (۲۰۰۶) در یافته های خود نشان داد که فعالیت های ورزشی می توانند از طریق تعدیل سایتوکاین های پیش التهابی، اثر ضد التهابی داشته باشند. دوناتو^۶ و دیگران (۲۰۱۳) نیز با بررسی تاثیر تمرینات مقاومتی ۸ هفته ای بر بیان IL-6 در بافت آدیپوز رت های حامل تومور، نشان دادند که کاهش سایتوکاین پیش التهابی IL-6 در گروه های تمرین و تمرین-تومور نسبت به گروه تومور و کنترل؛ بیانگر تاثیر تمرینات ورزشی در محیط التهابی است. همچنین در یافته های استوسکی^۷ و دیگران (۲۰۰۰) در مورد نقش تمرینات ورزشی در بیماری های مزمن التهابی نیز چنین نتیجه گیری شده است که تمرینات منظم دارای اثرات ضد التهابی هستند و در میان عوامل التهابی، IL-6 به عنوان اولین سایتوکاین در گردش خون در هنگام ورزش و فعالیت بدنی محسوب می شود و حضور IL-6 به مراتب بیش از دیگر

- | | | |
|---------------|--------------|----------------|
| 1. Yu | 5. Fischer | 9. Moderate |
| 2. Leu | 6. Donatto | 10. Regular |
| 3. NeoPlasia | 7. Ostrowski | 11. Continuous |
| 4. Iliopoulos | 8. Myokines | |

می‌پردازند، موثر واقع شود. همچنین می‌توان از تمرینات منظم هوایی به عنوان روش درمانی مکمل، در کنار سایر روش‌های درمانی تاثیر کارسینوژن‌ها سود جست. اما جهت درک بهتر سازگاری‌های تمرینات ورزشی در شرایط پاتولوژیک به خصوص در نمونه‌های انسانی و درک بهتر سازوکارهای مولکولی و سلولی درگیر در ارتباط با اثرات مفید انواع تمرینات ورزشی بر بافت ریه در سرطان ریه، نیاز

به مطالعات بیشتری است.

قدردانی و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری تخصصی گروه فیزیولوژی ورزشی گرایش قلب، عروق و تنفس از دانشگاه مازندران است. لازم است تشکر و قدردانی خود را از گروه و آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مازندران اعلام نمایم.

منابع

- Coussens, L. M., & Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, 420(6917), 860-867.
- Donatto, F. F., Neves, R. X., Rosa, F. O., Camargo, R. G., Ribeiro, H., Matos-Neto, E. M., & Seelaender, M. (2013). Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour-bearing rats. *Cytokine*, 61(2), 426-432.
- Fischer, C. P. (2006). Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance. *Exercise Immunology Review*, 12(6-33), 41.
- Ge, G. Z., Xu, T. R., & Chen, C. (2015). Tobacco carcinogen NNK-induced lung cancer animal models and associated carcinogenic mechanisms. *Acta Biochimica Biophysica Sinica*, 47(7), 477-487.
- Halappanavar, S., Russell, M., Stampfli, M. R., Williams, A., & Yauk, C. L. (2009). Induction of the interleukin 6/ signal transducer and activator of transcription pathway in the lungs of mice sub-chronically exposed to mainstream tobacco smoke. *BMC Medical Genomics*, 2(1), 56.
- Hecht, S. S. (2003). Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3(10), 733-744.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., & Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(2), 69-90.
- Jensen, W., Oechsle, K., Baumann, H. J., Mehnert, A., Klose, H., Bloch, W., ... & Baumann, F. T. (2014). Effects of exercise training programs on physical performance and quality of life in patients with metastatic lung cancer undergoing palliative chemotherapy. *Contemporary Clinical Trials*, 37(1), 120-128.
- Kruijssen-Jaarsma, M., Révész, D., Bierings, M. B., Buffart, L. M., & Takken, T. (2013). Effects of exercise on immune function in patients with cancer: a systematic review. *Exercise Immunology Review*, 19, 120-143.
- Lao, Y., Yu, N., Kassie, F., Villalta, P. W., & Hecht, S. S. (2007). Formation and accumulation of pyridyloxobutyl DNA adducts in F344 rats chronically treated with 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and enantiomers of its metabolite, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol. *Chemical Research in Toxicology*, 20(2), 235.
- Leitzmann, M. F., Koebnick, C., Abnet, C. C., Freedman, N. D., Park, Y., Hollenbeck, A., ... & Schatzkin, A. (2009). Prospective study of physical activity and lung cancer by histologic type in current, former, and never smokers. *American Journal of Epidemiology*, 169(5), 542-553.

- Leu, C. M., Wong, F. H., Chang, C., Shiu-Feng, H., & Cheng-po, H. (2003). Interleukin-6 acts as an antiapoptotic factor in human esophageal carcinoma cells through the activation of both STAT3 and mitogen-activated protein kinase pathways. *Oncogene*, 22(49), 7809.
- Iliopoulos, D., Hirsch, H. A., & Struhl, K. (2009). An epigenetic switch involving NF- κ B, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation. *Cell*, 139(4), 693-706.
- Lunz, W., Peluzio, M. C. G., Dias, C. M. G. C., Moreira, A. P. B., & Natali, A. J. (2008). Long-term aerobic swimming training by rats reduces the number of aberrant crypt foci in 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 41(11), 1000-1004.
- Miller, A., Brooks, G. D., McLeod, L., Ruwanpura, S., & Jenkins, B. J. (2015). Differential involvement of gp130 signalling pathways in modulating tobacco carcinogen-induced lung tumourigenesis. *Oncogene*, 34(12), 1510-1519.
- Mirdar, SH., Arab, A., Hedayati, M., & Hajizade, A. (2012). The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1 α levels of neonatal lung. *Tehran University of Medical Sciences*, 69(12). [Persian]
- Murakami, T., Takigawa, N., Ninomiya, T., Ochi, N., & Yasugi, M. (2014). Effect of AZD1480 in an epidermal growth factor receptor-driven lung cancer model. *Lung Cancer*, 83(1), 30-36.
- Ostrowski, K., Schjerling, P., & Pedersen, B. K. (2000). Physical activity and plasma interleukin-6 in humans—effect of intensity of exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 83(6), 512-515.
- Siveen, K. S., Sikka, S., Surana, R., Dai, X., Zhang, J., & Kumar, A. (2014). Targeting the STAT3 signaling pathway in cancer: role of synthetic and natural inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1845(2), 136-154.
- Tartibian, B., & Ebrahimi Torkaman, B. (2016). Inflammatory markers and muscle damage indices response to intense exercise in healthy boys: relationship between the markers. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 4(8), 31-41. [Persian]
- Vieira, R. P., Almeida-Oliveira, A. R., Aquino-Junior, J. C., Oliveira-Junior, M. C., Andrade-Sousa, A. S., Assumpcao-Neto, E., ... & Oliveira, A. P. L. (2014). Aerobic Exercise Reduces Asthma Phenotype Through Modulation Of SOCS-JAK-STAT Signaling. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (pp. A6480-A6480). American Thoracic Society.
- Yu, H., Lee, H., Herrmann, A., Buettner, R., & Jove, R. (2014). Revisiting STAT3 signalling in cancer: new and unexpected biological functions. *Nature Reviews Cancer*, 14(11), 736-746.
- Yu, Y. B., Liao, Y. W., Su, K. H., Chang, T. M., Shyue, S. K., Kou, Y. R., & Lee, T. S. (2012). Prior exercise training alleviates the lung inflammation induced by subsequent exposure to environmental cigarette smoke. *Acta Physiologica*, 205(4), 532-540.

Abstract**The effects of one period submaximal swimming exercise on STAT3 gene expression in lungs of wistar rats following the injection of carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1- (3-pyridyl)-1-butanone (NNK).****Mohammadbagher Nikzad¹, Shadmehr Mirdar^{2*}**

1. PhD student of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran - Science Committee of Public Lessons, University of Science and Technology of Mazandaran, Behshahr, Iran
2. Full Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran,

Background and Aim: It is believed that sports programs have minimal impact on pathological changes in the lung tissue exposed to smoking carcinogens. The aim of this study was to investigate the effects of twelve weeks submaximal swimming exercise on the expression of STAT3 in lung tissue of rats following the exposure to the carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1- (3-pyridyl)-1-butanone (NNK). **Materials and Methods:** Forty-six Wistar rats (with the average weight of 105.84 ± 27.93 g) were divided into five groups: A) exercise (E), B) exercise-NNK (EN), C) NNK (N), D) control (C) and E) Vehicle group (V) group. Exercise groups completed swimming submaximal exercises for twelve weeks, five days per week (Water flow 4-10 L/min, 25-60min). Rats in Vehicle group and NNK treatment group were respectively administered subcutaneous injections of distilled water and NNK (12.5mg/kg, once a week, 12 weeks). 48 hours after the last exercise, rats died and samples of their lung tissue were collected and stored in -70° . STAT3 expressions were measured by Real time PCR-ABI method. One-way analysis of variance and Tukey post hoc test ($P \leq 0.05$) were used for data analysis. **Results:** There was a significant increase ($p \leq 0.05$) in the NNK group compared to E ($P=0.001$) and EN ($P=0.002$) groups in the STAT3 gene expression while there was no significant difference ($P > 0.05$) between exercise groups with the control and saline groups. **Conclusion:** It seems that submaximal training can be used as a complementary therapy method along with other methods to prevent main factors leading to tumors.

Keywords: Submaximal exercises, STAT3, 4-(methylnitrosamino)-1- (3-pyridyl)-1-butanone (NNK).

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, vol. 7, no. 13, Spring & Summer 2019

Received: May 1, 2017

Accepted: Aug 26, 2017