مقاله پژوهشی

تأثیر یک دوره تمرین تناوبی هوازی به همراه نانوذرات سلنیوم بر میزان سایتوکاین‌های IL-6، TNF-α و IL-4 در بافت طحال موش‌های مبتلا به سرطان پستان

سودابه چکاچاک[۱]، مهدیه ملانوری شمسی[۱*]، سارا صعودی[۲]

۱. گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲. گروه ایمونولوژی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۱۰/۰۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۱/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: سایتوکاین‌ها مولکول‌هایی هستند که واسطه‌ی ایجاد پاسخ‌های ایمونولوژیک هستند. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی و ایمونولوژیک نانوذرات سلنیوم و تمرینات ورزشی هوازی، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین ورزشی هوازی و نانوذرات سلنیوم بر میزان سایتوکاین‌های اینترلوکین ۴، اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α) در بافت طحال موش‌های مبتلا به سرطان پستان بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۶۴ سر موش بالب‌سی به شکل تصادفی به ۸ گروه سالم-کنترل، تومور-کنترل، سالم-تمرین، تومور-تمرین، سالم- نانوذرات سلنیوم، تومور- نانوذرات سلنیوم، سالم- تمرین - نانو ذرات سلنیوم و تومور- تمرین - نانو ذرات سلنیوم تقسیم شدند. گروه‌های پژوهش تمرین تناوبی هوازی و استفاده از نانوذرات سلنیوم را به مدت ۶ هفته قبل و بعد از القای سرطان را پشت سر گذاشتند. در پایان هفته ششم بعد از تزریق تومور 4T1 میزان پروتئین سایتوکاین‌ها در بافت طحال با روش الایزا مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج: بر اساس نتایج پژوهش حاضر تمرین ورزشی هوازی و نانوذرات سلنیوم باعث کاهش معنادار در حجم تومور گشته‌اند ($P <۰/۰۵$). همچنین نتایج پژوهش نشان‌دهنده کاهش معنادار سطوح تمام سایتوکاین‌ها در بافت طحال در اثر سرطان بوده است ($P <۰/۰۵$)؛ اما نانوذرات سلنیوم و تمرین تناوبی هوازی به‌صورت هم‌زمان باعث افزایش سطوح سایتوکاین TNF-α در بافت طحال گشته‌اند ($P <۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی هوازی و استفاده از نانوذرات سلنیوم توانسته‌اند با افزایش سایتوکاین فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا به‌عنوان یک سایتوکاین مجموعه سلول‌های کمکی نوع ۱ در تقویت سیستم ایمنی و کاهش حجم تومور نقش داشته باشند.

کلمات کلیدی: تمرین هوازی، نانوذرات سلنیوم، سرطان، سایتوکاین، طحال

مقدمه

سایتوکاین‌ها به‌عنوان مولکول‌هایی معرفی‌شده‌اند که توسط سلول‌های سیستم ایمنی تولید و رها می‌شوند و واسطه‌ی ایجاد پاسخ‌های ایمنی هستند (۱، ۲). به بیان دقیق‌تر، سایتوکاین‌ها مولکول‌های ترشحی هستند که می‌توانند اثرات ویژه‌ای بر سلولی که از آن رها می‌شوند و همچنین بر سلول‌های دیگر اعمال کنند (۲). ایمنی باواسطه‌ی سلولی به‌عنوان بخشی از ایمنی سازشی که به‌وسیله‌ی لنفوسیت‌های T و ماکروفاژها عمل می‌کند به نیمرخ سایتوکاین‌های رهاشده از لنفوسیت‌های T نوع ۱ (Th1)[۱] شامل اینترلوکین ۲ (IL-2)، اینترفرون گاما (INF-γ) و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α) بستگی دارد. این سایتوکاین‌ها ماکروفاژها را فعال کرده و سازوکارهای سلول‌کشی لنفوسیت‌های T کشنده (Tc) را تحریک می‌کنند. از سویی دیگر، سایتوکاین‌های ترشح‌شده از لنفوسیت‌های T نوع ۲ (Th2) شامل اینترلوکین ۴ (IL-4)، اینترلوکین ۵ و اینترلوکین ۱۳ می‌باشند که برای شروع پاسخ‌های ایمنی هومورال مانند تمایز لنفوسیت‌های B به سمت تولید آنتی‌بادی‌ها و واکنش‌های آلرژیک ضروری هستند. سایتوکاین‌های معینی که به‌وسیله‌ی لنفوسیت‌های Th1 و Th2 رها می‌شوند، به‌صورت اتوکرین و مهار متقابل عمل می‌کنند. IL-4، گسترش سلول‌های Th2 را شروع کرده، ولی تکثیر لنفوسیت‌های Th1 را مهار می‌کند؛ درحالی‌که IFN-γ و TNF-α

*نویسنده مسئول: مهدیه ملانوری شمسی، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
Email: molanouri@modares.ac.ir

1- T helper

رشد سلول‌های Th1 را افزایش داده، ولی گسترش لنفوسیت‌های Th2 را کاهش می‌دهند (۱، ۲).

سرطان پستان متداول‌ترین نوع از سرطان و دومین علت مرگ‌ومیرهای مرتبط با سرطان در میان زنان است (۳، ۴). اثرات سیستم ایمنی بر رشد تومورهای سرطانی ازجمله سرطان پستان به‌صورت کامل مشخص نشده است؛ اما به نظر می‌رسد بخشی از سیستم ایمنی در جهت حمایت از رشد تومور عمل می‌کنند و بخش‌های دیگری از سیستم ایمنی دارای پاسخ‌های ضدتوموری در برابر سلول‌های سرطان پستان هستند. به نظر می‌رسد نوع و چگونگی فعال‌سازی سلول‌های سیستم ایمنی در تأثیرات ایجادشده در ریزمحیط تومور مؤثر می‌باشند (۵). اختلال در عملکرد سیستم ایمنی در بیماران با مراحل پیشرفته سرطان مشاهده شده است و کاهش فعالیت لنفوسیت‌های T و سلول‌های کشنده طبیعی به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های اصلی مطرح بوده است (۶، ۷). پیشنهاد شده است که پاسخ‌های ایمونولوژیکی سلول‌های Th1 دارای اثرات ضد توموری است (۱۱-۸). از سویی دیگر، نشان داده شده است فعالیت‌های ورزشی می‌توانند در بهبود وضعیت ایمونولوژیکی در بیماران مبتلا به سرطان پستان مؤثر باشند (۱۱، ۱۲)؛ اما این نکته که کدام بخش‌های سیستم ایمنی در این بیماران بیشتر تحت تأثیر فعالیت ورزشی قرار می‌گیرند هنوز به‌روشنی مشخص نیست.

از سویی دیگر استرس اکسیداتیو و تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن به‌عنوان یکی از مهم‌ترین دلایل در پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها ازجمله سرطان معرفی شده است (۱۳، ۱۴). سلنیوم در بدن انسان به شکل اسیدآمینه‌های سلنوسیستئین وجود دارد و بخشی سازنده از سلنوپروتئین‌ها است و عملکرد مهمی در ارتباط با فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. از طرف دیگر سلنیوم با خاصیت ضد سرطان‌زایی به‌ویژه از طریق سلنوآنزیم-های خود می‌تواند از تغییر شکل سلول‌های طبیعی به سلول‌های سرطانی و فعال‌سازی ژن‌های سرطانی در سلول‌های تغییر شکل یافته پیشگیری کند (۱۵). در میان ظهور روش‌های جدید، تکنولوژی نانو برای درمان‌های مستقیم ضد سرطانی و همچنین به‌عنوان تحویل‌دهنده داروها موردتوجه قرار گرفته‌اند. در حقیقت مواد ضد سرطانی، شکل‌گرفته در مقیاس نانو خواص زیستی قابل‌ملاحظه‌ای همراه با سمیت پایین را از خود نشان داده‌اند (۱۶). گزارش‌های سمیت برای عنصر سلنیوم (Se^{o}) در سایز نانو نسبت به سمیت یون سلنات یا سلنیت (Se^{4+}) کمتر است؛ بنابراین به نظر می‌رسد نانو ذرات سلنیوم (SeNPs) می‌توانند کاندیدای خوبی برای جایگزین شدن اشکال دیگر سلنیوم در مکمل‌های غذایی یا فرم‌های دارویی باشد (۱۷). باوجوداین، با توجه به اثرات توکسیک مصرف بالای نانوذرات کاهش حجم‌های مصرفی به‌ویژه در بیماران سرطانی توصیه شده است (۱۸).

فعالیت ورزشی منظم به‌عنوان یکی از عوامل کاهش‌دهنده خطر ابتلا به سرطان معرفی شده است. همچنین، مطالعات انجام‌شده نشان‌دهنده آن هستند که تمرینات ورزشی می‌توانند در کاهش میزان مرگ‌ومیر در بیماران مبتلا به سرطان پستان مؤثر باشند (۱۹، ۲۰، ۲۱). اثرات فعالیت‌های ورزشی بر عملکرد سیستم ایمنی به‌صورت کامل مشخص نشده است. پیشنهاد شده است که اثرات ضدالتهابی ورزش می‌تواند یکی از مکانیسم‌های درگیر در تقویت سیستم ایمنی به دنبال فعالیت‌های ورزشی باشد (۲۲). از سویی دیگر به اثرات آنتی‌اکسیدانی تمرینات ورزشی استقامتی در مطالعات مختلف اشاره شده است (۲۳). این احتمال وجود دارد که کاهش میزان نانوذرات مصرفی و درنتیجه جلوگیری از ایجاد عوارض احتمالی آن‌ها و استفاده هم‌زمان از تمرینات ورزشی بتواند دیدگاه جدیدی در رابطه با اثرات هم‌زمان استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و تمرینات ورزشی به‌ویژه در بیماری سرطانی را ارائه دهد.

بنابراین با توجه به ضعف ایمونولوژیکی ایجادشده به دنبال سرطان و با توجه به اینکه بافت طحال به‌عنوان یک بافت مهم در عملکرد سیستم ایمنی مطرح است تغییرات احتمالی در سایتوکاین Th1 و Th2 در این بافت می‌تواند پیش‌بینی کننده تغییرات سیستم ایمنی باشد. همچنین این نکته باید در نظر گرفته شود که رده سلولی استفاده‌شده در مطالعه حاضر 4T1 است، این رده سلولی برای بررسی مراحل نهایی سرطان پستان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۴). با نظر گرفتن اثرات تمرینات ورزشی استقامتی و نانوذرات سلنیوم در تقویت عملکرد سیستم ایمنی هدف از پژوهش حاضر بررسی یک دوره تمرینات ورزشی هوازی به همراه نانوذرات سلنیوم بر تغییرات سایتوکاین‌های TNF-α، IL-6 و IL-4 در موش‌های مبتلا به سرطان پستان بود.

مواد و روش ها

تعداد ۶۴ سر موش بالب سی (Balb/c) ماده (۳ تا ۵ هفته با میانگین وزن ۱۷ گرمی) از موسسه پاستور خریداری و به حیوان خانه دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. موش‌ها در ابتدای

پژوهش به شکل تصادفی به ۸ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه-های پژوهش شامل، سالم – کنترل (C)، تومور – کنترل (T)، سالم – تمرین (E)، تومور – تمرین (ET)، سالم – نانو ذرات سلنیوم (Se)، تومور – نانو ذرات سلنیوم (SeT)، سالم – تمرین – نانو ذرات سلنیوم (SeE)، تومور – تمرین – نانو ذرات سلنیوم (SeET)بودند. گروه‌های کنترل مداخله تمرین و استفاده از نانوذرات سلنیوم را نداشتند. سایر گروه‌های پژوهش ۱۲ هفته تمرین تناوبی هوازی، استفاده از نانوذرات سلنیوم و یا استفاده هم‌زمان از هر دو را پشت سر گذاشتند. ۶ هفته بعد از شروع پروتکل پژوهش رده سلولی 4T1 و با تعداد $۱۰^{۶} \times ۱$ به‌صورت زیرجلدی به گروه‌های اختصاص داده شده به تومور تزریق شد. تومور حدود ۲ هفته بعد از تزریق در حیوانات قابل‌لمس بود. حجم تومور در ۲ بعد اندازه‌گیری شد. بزرگ‌ترین بعد تومور به‌عنوان طول (L) تومور در نظر گرفته شد و بعد دیگر (در زاویه ۹۰ درجه) به‌عنوان عرض (W) در نظر گرفته شد. هر دو روز یک‌بار طول و عرض تومور توسط کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد و یا استفاده از فرمول محاسباتی حجم تومور $[V=1/2(L2\times W)]$ میزان آن تعیین شد (۲۵).

سلنیوم آماده و به میزان ۲۰۰ میکرولیتر برای هر موش استفاده شد.

برنامه تمرینی شامل تمرین هوازی تناوبی بود که با توجه به مطالعات انجام‌شده درزمینه سرطان در دانشگاه تربیت مدرس و همچنین پژوهش‌های انجام‌شده در مطالعات دیگر طراحی شد (۲۵، ۲۹، ۳۰). به‌صورت خلاصه موش‌های گروه تمرین بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن در هر جلسه اینتروال‌های دودقیقه‌ای با شدتی معادل ۷۰ درصد حداکثر سرعت بیشینه حیوانات (Vmax) را پشت سر می‌گذاشتند که این اینتروال‌های ۲ دقیقه-ای با ریکاوری فعال با شدت ۵۰ درصد حداکثر سرعت بیشینه دنبال شد. یک تست بیشینه هر دو هفته یک‌بار با تعداد مشخصی از موش‌های توموری و سالم که در پروتکل اصلی پژوهش شرکت نمی‌کردند اجرا شد. به‌صورت خلاصه، این تست با سرعت ۶ متر بر دقیقه آغاز شده و سرعت نوار گردان هر ۳ دقیقه ۳ متر بر دقیقه افزایش یافته و تا زمان رسیدن حیوانات به واماندگی ادامه یافت (۳۱، ۳۲). سرعت‌های مورداستفاده در مورد پروتکل تمرین و مدت‌زمان مربوط به آن در جدول ۱ نشان داده شده است. کلیه اصول اخلاقی مربوط به کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی زیر نظر

جدول۱- پروتکل تمرین ورزشی برای گروه‌های سالم (ردیف ۱) و سرطانی (ردیف ۲) ۶ هفته قبل و ۶ هفته بعد از القای سرطان

		دو هفته اول	دو هفته دوم	دو هفته سوم	دو هفته چهارم	دو هفته پنجم	دو هفته ششم
گروه سالم	سرعت	۸-۱۲ متر بر دقیقه	۱۲-۱۶ متر بر دقیقه	۱۶-۲۰ متر بر دقیقه	۱۸-۲۲ متر بر دقیقه	۲۰-۲۴ متر بر دقیقه	۲۲-۲۴ متر بر دقیقه
	زمان	۴۰ دقیقه	۵۰ دقیقه	۴۰ دقیقه	۴۴ دقیقه	۴۶ دقیقه	۴۴ دقیقه
گروه سرطانی	سرعت	۸-۱۲ متر بر دقیقه	۱۲-۱۶ متر بر دقیقه	۱۶-۲۰ متر بر دقیقه	۱۸-۲۲ متر بر دقیقه	۱۸-۲۰ متر بر دقیقه	۱۴-۱۸ متر بر دقیقه
	زمان	۴۰ دقیقه	۵۰ دقیقه	۴۰ دقیقه	۴۴ دقیقه	۴۶ دقیقه	۴۴ دقیقه

نانو ذرات سلنیوم به‌صورت یک روز در میان و به‌صورت خوراکی به موش‌ها داده شد (۲۶). آماده کردن نانوذرات سلنیوم بر اساس پروتکل مورداستفاده از مطالعات انجام‌شده در این زمینه انجام شد (۲۷، ۲۸). به‌صورت خلاصه محلول ۵/۲ میلی‌مولار دی‌اکسید سلنیوم آماده شد و به محلول ۵/۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک در حال مخلوط شدن روی همزن برقی (۳۰۰ دور در دقیقه) اضافه شد. ترکیب به‌دست‌آمده سانتریفیوژ گردید و سه بار با استفاده از کاغذ صافی شستشو داده شد. محلول نانوذرات

کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس در این پژوهش رعایت شده است.

بعد از پایان دوره مداخله تمرینی و استفاده از نانوذره سلنیوم، موش‌ها با ترکیبی از کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند و بافت طحال جدا گردید و برای اندازه‌گیری‌های بعدی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. بافت طحال در بافر لیز سرد RIPA هموژن شد سوپرناتانت جمع‌آوری و محتوای کلی پروتئین سوپرناتانت به‌وسیله روش برادفورد تعیین شد (۳۳).

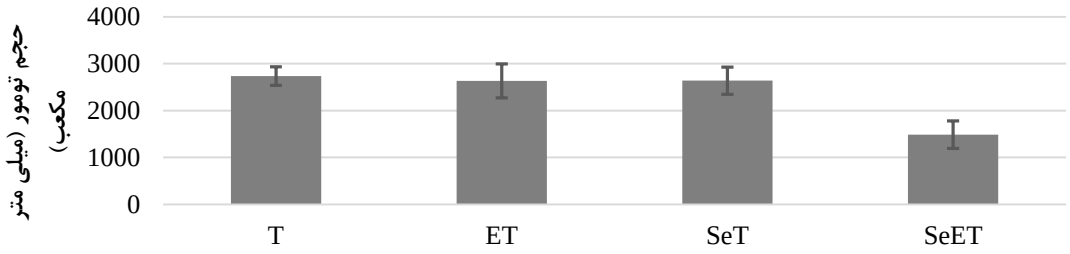
تست برادفورد برای تعیین غلظت پروتئین در هر بافت و یکسان‌سازی مقادیر استفاده شده برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین با استفاده از روش الایزا به کار برده شد. سطوح سایتوکاین‌های IL-6، IL-4 و TNF-α به‌وسیله روش الایزا و با استفاده از کیت آزمایشگاهی (R&D) اندازه‌گیری شدند. حساسیت کیت‌ها برای سایتوکاین‌های TNF-α، IL-6 و IL-4 به ترتیب ۱۰/۹، ۱/۶ و ۲ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات درون سنجی و برون سنجی به ترتیب ۳/۹ و ۶/۲ درصد برای TNF-α، ۴/۷ و ۷/۵۳ برای IL-6 و ۴/۷ و ۵/۲ برای IL-4 بود.

کلیه اطلاعات به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شده است. برای بررسی نرمال بودن توزیع متغیرها از آزمون کولموگروف-اسمیرنف استفاده شد. از آزمون آماری آنالیز واریانس و آزمون پیگیری آماری توکی برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. همه آنالیزها در نرم‌افزار SPSS V16.0 انجام گرفت. سطح معناداری ۰/۰۵> P در نظر گرفته شد.

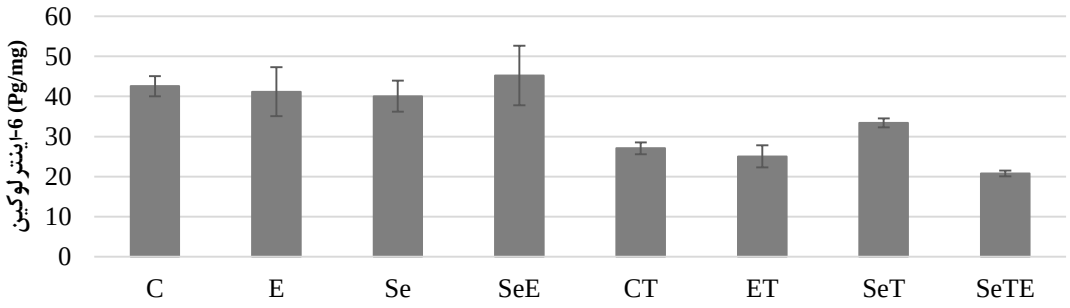
نتایج

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر هم‌زمان استفاده از تمرین تناوبی هوازی و نانوذرات سلنیوم بر سطوح سایتوکاین‌های IL-6، IL-4 و TNF-α در بافت طحال انجام شد. نتایج پژوهش حاضر در مورد تغییرات حجم تومور نشان دهنده اثرات متغیرهای پژوهش بر اندازه حجم تومور در موش‌های توموری است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر تمرین باعث کاهش حجم تومور شده است (P=۰/۰۵). از سویی دیگر تأثیر نانوذرات سلنیوم بر حجم تومور نیز معنادار بوده است (P=۰/۰۰۱) (نمودار ۱). به نظر می‌رسد تمرینات تناوبی هوازی و استفاده از نانوذرات توانسته‌اند در بهبود وضعیت سرطان در گروه‌های مداخله مؤثر باشند.

از سویی دیگر، نتایج مربوط به تغییرات ایجادشده در مورد سایتوکاین‌های بافت طحال در نمودارهای ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است. میزان سایتوکاین IL-6 بافت طحال در گروه‌های مختلف پژوهش در نمودار ۲ نشان داده شده است. نتایج پژوهش نشان‌دهنده تأثیر سرطان بر بیان این سایتوکاین در بافت طحال است (P=۰/۰۰۱). میزان این سایتوکاین در گروه‌های سرطانی نسبت به سالم به‌صورت معنادار کاهش‌یافته است؛ اما اثرات تمرین و استفاده از نانوذرات سلنیوم در مورد این سایتوکاین معنادار نیست (P>۰/۰۵).



نمودار ۱. تغییرات حجم تومور (میلی‌متر مکعب) در گروه‌های مختلف پژوهش (اطلاعات به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شده است)؛ تعداد موش در هر گروه N=8؛ T: کنترل، ET: تمرین؛ SeT: سلنیوم؛ SeET: سلنیوم+تمرین



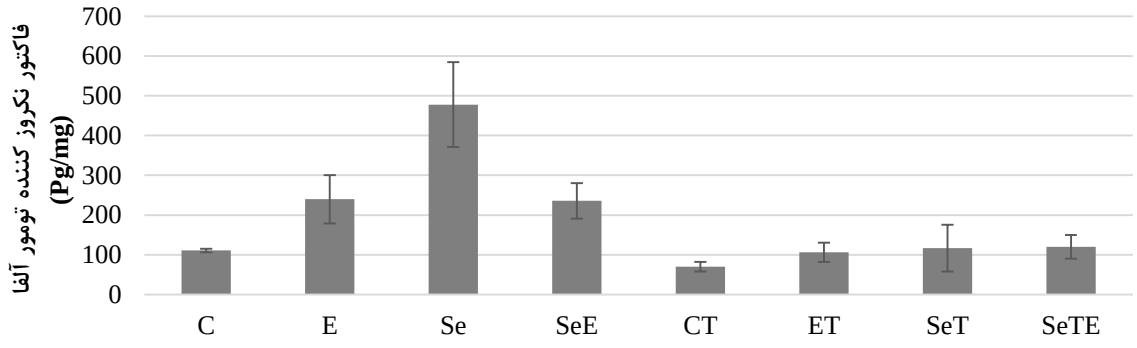
نمودار ۲. میزان پروتئین IL-6 بافت طحال در گروه‌های مختلف پژوهش؛ سالم – کنترل (C)، تومور – کنترل (T)، سالم – تمرین (E)، تومور – تمرین (ET)، سالم – نانو ذرات سلنیوم (Se)، تومور – نانو ذرات سلنیوم (SeT)، سالم – تمرین – نانو ذرات سلنیوم (SeE)، تومور – تمرین – نانو ذرات سلنیوم (SeET) (اطلاعات به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شده است)

نمودار ۳ میزان پروتئین TNF-α در گروه‌های مختلف پژوهش در بافت طحال را نشان داده است. نتایج پژوهش نشان‌دهنده وجود تأثیر معنادار نانوذره سلنیوم (P=۰/۰۳) و سرطان (P=۰/۰۰۴) بر این سایتوکاین در بافت طحال بوده است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده سرطان باعث کاهش معنادار در میزان این سایتوکاین در بافت طحال بوده است اما تأثیر استفاده از نانوذرات سلنیوم در جهت افزایش این سایتوکاین در هر دو گروه سالم و سرطانی معنادار بوده است. همچنین اثر متقابل تمرین و سلنیوم نیز در مورد این فاکتور معنادار بوده است (P=۰/۰۴). این نتایج نشان‌دهنده آن است که تمرینات ورزشی و استفاده از نانوذرات سلنیوم به‌صورت هم‌زمان می‌تواند در افزایش میزان سایتوکاین TNF-α در بافت طحال مؤثر باشد (نمودار ۳).

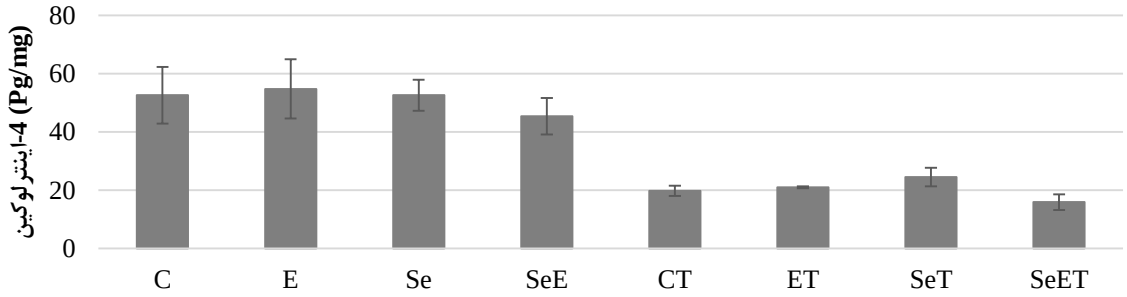
القای تومور باعث کاهش معنادار در میزان این سایتوکاین در بافت طحال گشته است (نمودار ۴).

بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده کاهش حجم تومور در اثر تمرین تناوبی هوازی و استفاده از نانوذرات سلنیوم بوده است. سرطان باعث کاهش معنادار میزان سایتوکاین‌های IL-4، IL-6 و TNF-α در بافت طحال گشته است؛ اما تمرین هوازی و استفاده از نانوذرات سلنیوم به‌صورت هم‌زمان باعث افزایش سطوح TNF-α در بافت طحال شده است. به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی هوازی و استفاده از نانوذرات سلنیوم می‌توانند با افزایش سایتوکاین TNF-α به‌عنوان یک سایتوکاین مجموعه Th1 در تقویت سیستم ایمنی و کاهش حجم تومور نقش داشته باشند.



نمودار ۳. میزان پروتئین TNF-α بافت طحال در گروه‌های مختلف پژوهش؛ سالم – کنترل (C)، تومور – کنترل (T)، سالم – تمرین (E)، تومور – تمرین (ET)، سالم – نانو ذرات سلنیوم (Se)، تومور – نانو ذرات سلنیوم (SeT)، سالم – تمرین – نانو ذرات سلنیوم (SeE)، تومور – تمرین – نانو ذرات سلنیوم (SeET) (اطلاعات به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شده است)



نمودار ۴. میزان پروتئین IL-4 بافت طحال در گروه‌های مختلف پژوهش؛ سالم – کنترل (C)، تومور – کنترل (T)، سالم – تمرین (E)، تومور – تمرین (ET)، سالم – نانو ذرات سلنیوم (Se)، تومور – نانو ذرات سلنیوم (SeT)، سالم – تمرین – نانو ذرات سلنیوم (SeE)، تومور – تمرین – نانو ذرات سلنیوم (SeET) (اطلاعات به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شده است)

از سویی دیگر نتایج پژوهش نشان‌دهنده تأثیر معنادار سرطان بر پروتئین IL-4 در بافت طحال بوده است (P=۰/۰۰۱)؛ اما تمرین و نانوذرات سلنیوم تأثیر معناداری بر این سایتوکاین نداشته‌اند.

نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده کاهش معنادار حجم تومور در اثر تمرینات تناوبی هوازی و استفاده از نانوذرات سلنیوم بوده است. پژوهش‌های انجام‌گرفته در مورد اثرات فعالیت‌های ورزشی

بر رشد تومور نتایج ضدونقیضی را ارائه داده‌اند. زیلینسکی و همکاران (۲۰۰۴) کاهش و تأخیر رشد تومور را در گروه تجربی نسبت به کنترل پس از ۴ هفته تمرین استقامتی را به کاهش میزان سلول‌های ایمنی در تومور نسبت دادند (۳۴). همچنین مطالعه امانی و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان‌دهنده کاهش حجم تومور و رگ زایی در تومور در اثر تمرینات استقامتی است (۳۵). بااین‌حال برخی از مطالعات نیز نشان‌دهنده عدم تأثیر تمرینات ورزشی بر تغییرات حجم تومور می‌باشند (۳۶). به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر نیز ترکیب تمرینات ورزشی و نانوذرات سلنیوم توانسته است از رشد تومور جلوگیری کنند. بررسی مطالعات مختلف نشان می‌دهد نوع تومور و مرحله سرطان می‌توانند عوامل مهمی در تغییرات ایجادشده در وضعیت سرطان در نمونه‌های حیوانی باشند. نکته قابل‌تأمل دیگر در مورد تمرینات ورزشی استفاده از پروتکل‌های مختلف ورزشی بوده است، به نظر می‌رسد فعالیت‌های ورزشی تناوبی هوازی با توجه به ماهیت این نوع فعالیت‌ها در ایجاد خستگی کمتر و توانایی انجام فعالیت‌های ورزشی با شدت بالاتر در بیماران سرطانی مؤثر است.

از سویی دیگر، سرطان به‌عنوان یک بیماری پیچیده است که مکانیسم‌های مختلفی در ارتباط آن با اثرات فعالیت‌های ورزشی مؤثر می‌باشند. به نظر می‌رسد ویژگی‌های فردی، نوع ورزش و همچنین مرحله تشخیص سرطان از عمده‌ترین این مکانیسم‌ها می‌باشند. پیشنهاد شده است عمده‌ترین اثرات فعالیت‌های ورزشی در مورد سرطان کنترل چاقی و عوامل مرتبط به آن، کاهش سطوح انسولین، گلوکز و هورمون‌های جنسی، افزایش تحریک‌پذیری روده‌ای، کاهش التهاب و همچنین تحریک ایمونولوژیکی است (۳۷، ۳۸، ۳۹، ۴۰). در مورد مکانیسم‌های درگیر در اثرات فعالیت‌های ورزشی در پاسخ‌های سیستم ایمنی مطالعات محدودی انجام شده است. یکی از مکانیسم‌های پیشنهادی ارتباط متقابل سایتوکاین‌های آزادشده از عضله اسکلتی ازجمله IL-6 است (۴۱). همچنین نشان داده شده است که این سایتوکاین‌ها به‌ویژه IL-6 در ایجاد اثرات ضدالتهابی ایجادشده به دنبال فعالیت‌های ورزشی نیز می‌توانند مؤثر باشند (۳۷). مطالعات بیشتر در این زمینه می‌توانند در شناخت مکانیسم‌های درگیر در اثرات فعالیت‌های ورزشی به‌ویژه در رابطه با سیستم ایمنی در بیماری سرطان مؤثر باشند.

پیشنهاد شده است سلنیوم با مکانیسم‌های متعددی ازجمله خواص آنتی‌اکسیدانی، افزایش خنثی‌سازی عوامل سرطان‌زا، افزایش عملکرد سیستم ایمنی، تعدیل تکثیر سلولی، مهار تهاجم سلولی و رگ زایی تومورها نقش محافظتی خود را در مراحل مختلف سرطان ایفا می‌کند (۴۲). بااین‌حال، با توجه به پتانسیل بالای نانوذرات در علوم مختلف که باعث بروز ویژگی‌های جدید و گوناگون در مورد آن‌ها می‌شوند و همچنین در نظر گرفتن این‌که نانوذرات سلنیوم ازنظر بیولوژیک از سمیت کمتری برخوردار هستند می‌توان از این ویژگی نانوذرات برای مقاصد مختلف زیستی استفاده کرد. یکی از مکانیسم‌هایی که سلنیوم می‌تواند به پیشگیری از سرطان کمک نماید درواقع اثر غیرمستقیم این عنصر بر تقویت سیستم ایمنی است. در این رابطه شاید بتوان سلنیوم و مخصوصاً فرم نانوذره آن را به‌عنوان یک ترکیب ادجوانی در جهت تقویت عملکرد کلیه سلول‌های سیستم ایمنی مطرح نمود (۱۷، ۱۸). در چندین مطالعه انجام شده در این زمینه نشان داده شده است که نانوذرات سلنیوم می‌توانند با افزایش عملکرد سیستم ایمنی در جهت افزایش سلول‌های Th1 مؤثر باشند (۱۷، ۲۶). در یک سری مطالعات اولیه که توسط یزدی و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد نشان داده شد که مصرف Se NPs در موش‌های مبتلا به سرطان پستان در تمام روزهای هفته برای مدت دو هفته قبل از القای تومور و سه هفته پس‌ازآن می‌تواند سبب افزایش طول عمر موش‌ها و بهبود عملکرد سیستم ایمنی در پاسخ به رشد تومور گردد (۱۷). در مطالعه دیگری که توسط یزدی و همکاران انجام شد تقویت سیستم ایمنی سلولی در موش‌هایی که نانو ذرات سلنیوم را به‌صورت خوراکی دریافت کرده بودند مشاهده شد (۲۶)؛ اما نکته قابل‌توجه در این مطالعات عدم توجه به اثرات فیزیولوژیکی ایجادشده در اثر مصرف این نانوذره بوده است. به نظر می‌رسد این نانوذره به میزان زیادی توسط بافت تومور و طحال جذب شده و این خود باعث اثرات بیشتر ایمونولوژیکی در آن‌ها می‌شود. در مطالعه انجام‌شده توسط ملانوری شمسی و همکاران (۲۰۱۷) نشان داده شده که استفاده از نانوذرات سلنیوم باعث تسریع وضعیت کاچکسی در موش‌های مبتلا به سرطان پستان می‌شود و تمرینات ورزشی باعث جلوگیری از این وضعیت شده است (۴۳). همچنین، مطالعاتی که تاکنون بر اثرات نانوذرات سلنیوم بر سرطان پستان تأکید داشته‌اند، بر استفاده از این نانوذرات در تمام روزهای هفته تأکید می‌کنند (۱۷، ۲۶). در مطالعه حاضر مقادیر مورداستفاده به‌صورت هفتگی در حیوانات کاهش یافته است. به نظر می‌رسد باوجودآنکه تمرینات ورزشی به‌ویژه در

مراحل پیشرفته سرطان نمی‌تواند اثرات درمانی داشته باشد اما می‌تواند در تعدیل پاسخ‌های مشاهده‌شده داروها و مکمل‌ها و جلوگیری از عوارض برخی از درمان‌های دارویی قابل استفاده باشد.

به اثرات فعالیت‌های ورزشی بر سایتوکاین‌های آزادشده از سلول‌های Th1 و Th2 در مطالعات معدودی توجه شده است. در مطالعه انجام‌شده توسط بارتون و همکاران (۱۹۹۷) نشان داده شده است که IFN-γ مشتق شده از سلول Th1 به‌طور معناداری حتی پس از یک جلسه ورزش با شدت متوسط به مدت ۳۰ دقیقه افزایش می‌یابد (۴۴). همچنین گزارش شده است که تمرینات ورزشی طولانی‌مدت با شدت متوسط در دوره‌های زمانی مختلف می‌توانند باعث جلوگیری از کاهش سلول‌های T و سایتوکاین‌های مشتق شده از Th1 در افراد مسن شود. پیشنهاد شده است که تمرینات ورزشی با شدت متوسط در بهبود عملکرد ایمنی در افراد مسن مؤثر بوده و تمایز سلول‌های T ناشی از ورزش به‌طرف فنوتیپ نوع ۱ یکی از مکانیسم‌های اساسی در این فرایند است (۴۵، ۴۶، ۴۷). نتایج منتشرنشده از مطالعه حاضر نیز نشان‌دهنده افزایش پاسخ‌های سلول‌های طحال برای تولید سایتوکاین‌های Th1 مانند INF-γ و TNF-α بوده است. این افزایش همچنین در مورد بافت‌هایی دیگری مانند عضله اسکلتی هم مشاهده شده است. به نظر می‌رسد تمرینات تناوبی هوازی با شدت متوسط توانسته است موجب تقویت سیستم ایمنی در جهت افزایش سلول‌های Th1 و کاهش همزمان در حجم تومور شوند.

پژوهش حاضر در جهت بررسی میزان سایتوکاین‌های IL-6، IL-4 و TNF-α در بافت طحال به دنبال استفاده همزمان از تمرینات تناوبی هوازی و نانوذرات سلنیوم انجام شده بود. نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده کاهش تمام سایتوکاین‌های اندازه‌گیری شده به دنبال سرطان بوده است؛ اما تمرینات ورزشی و نانوذرات سلنیوم توانسته است در افزایش سطوح TNF-α به‌عنوان سایتوکاینی که در مجموعه سایتوکاین‌های Th1 قرار می‌گیرد مؤثر باشد این احتمال وجود دارد که استفاده همزمان از نانوذرات سلنیوم و تمرینات ورزشی ضمن تقویت پاسخ‌های سیستم ایمنی در جهت افزایش سلول‌های Th1 به کاهش حجم تومور کمک کنند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مادی و معنوی معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس اجرا شده است. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از این معاونت اعلام می‌دارند. کلیه اصول اخلاقی مربوط به کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی، زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس در این پژوهش رعایت شده است. کد مربوط به پایان‌نامه ۲۲۷۸۲۴۵ است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai Sh. Cellular and Molecular Immunology. 8nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2015, P. 327-356.
2. Berger A. Th1 and Th2 responses: what are they? BMJ. 2000; 12; 321(7258): 424.
3. Ginsburg O, Bray F, Coleman MP, Vanderpuye V, Eniu A, Kotha SR, et al. The global burden of women's cancers: a grand challenge in global health. Lancet.2017; 389(1):847-860.
4. Tanaka T, Decuzzi P, Cristofanilli M, Sakamoto JH, Tasciotti E, Robertson FM, et al. Nanotechnology for breast cancer therapy. Biomed Microdevices 2009; 11(1):49-63.
5. Mukhtar RA, Nseyo O, Campbell MJ, Esserman LJ. Tumor-associated macrophages in breast cancer as potential biomarkers for new treatments and diagnostics. Expert Rev Mol Diagn. 2011;11(1):91-100.
6. Balch CM, Tilden AB, Dougherty PA, Cloud GA, Abo T. Heterogeneity of natural killer lymphocyte abnormalities in colon cancer patients. Surgery, 1984;95(1): 63-70.
7. Dillman RO, Koziol JA, Zavanelli MI, Beauregard JC, Halliburton BL, Glassy MC, et al. Immunoincompetence in cancer patients. Assessment by in vitro stimulation tests and quantification of lymphocyte subpopulations. Cancer. 1984;1;53(7):1484-91.
8. Carvalho MI, Pires I, Prada J, Queiroga FL. A role for T-lymphocytes in human breast cancer and in canine mammary tumors. Biomed Res Int. 2014;14 (1):130894.
9. Goto S, Sato M, Kaneko R, Itoh M, Sato S, Takeuchi S. Analysis of Th1 and Th2 cytokine production by peripheral blood mononuclear cells as a parameter of immunological dysfunction in advanced cancer patients. Cancer Immunol Immunother. 1999;48(8):435-42.

10. Gooden MJ, de Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. Br J Cancer. 2011; 28;105(1):93-103.
11. Na YM, Kim MY, Kim YK, Ha YR, Yoon DS. Exercise therapy effect on natural killer cell cytotoxic activity in stomach cancer patients after curative surgery. Arch Phys Med Rehabil. 2000;81(6):777-9.
12. Kim JJ, Shin YA, Suk MH. Effect of a 12-week walking exercise program on body composition and immune cell count in patients with breast cancer who are undergoing chemotherapy. J Exerc Nutrition Biochem. 2015;19(3):255-62.
13. Shen Q, Zhang B, Xu R, Wang Y, Ding X, Li P. Antioxidant activity in vitro of the selenium-contained protein from the Se-enriched Bifidobacterium animalis 01. Anaerobe. 2010;16(4):380-6.
14. Jayaprakash V, Marshall JR. Selenium and other antioxidants for chemoprevention of gastrointestinal cancers. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2011;25(4-5):507-18.
15. Schrauzer GN. Anti-carcinogenic effects of selenium. Cell Mol Life Sci. 2000;57(13-14):1864-73.
16. Misra R, Acharya S, Sahoo SK. Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. Drug Discov Today. 2010;15(19-20):842-50.
17. Zhang J, Wang X, Xu T. Elemental selenium at nano size (Nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with se-methylselenocysteine in mice. Toxicol Sci. 2008;101(1):22-31.
18. Yazdi MH, Mahdavi M, Varastehmoradi B, Faramarzi MA, Shahverdi AR. The immunostimulatory effect of biogenic selenium nanoparticles on the 4T1 breast cancer model: an in vivo study. Biol Trace Elem Res. 2012;149(1):22-8.
19. Monninkhof EM, Elias SG, Vlems FA, van der Tweel I, Schuit AJ, Voskuil DW, et al. Physical activity and breast cancer: a systematic review. Epidemiology. 2007;18(1):137-57.
20. Ferrer RA, Huedo-Medina TB, Johnson BT, Ryan S, Pescatello LS. Exercise interventions for cancer survivors: a meta-analysis of quality of life outcomes. Ann Behav Med. 2011;41(1):32-47.
21. Neilson HK, Friedenreich CM, Brockton NT, Millikan RC. Physical activity and postmenopausal breast cancer: proposed biologic mechanisms and areas for future research. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2009;18(1):11-27.
22. Kruijsen-Jaarsma M, Révész D, Bierings MB, Buffart LM, Takken T. Effects of exercise on immune function in patients with cancer: a systematic review. Exerc Immunol Rev. 2013;19 (1):120-43.
23. Peternelj TT, Coombes JS. Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? Sports Med. 2011; 41(12):1043-69.
24. Tao K, Fang M, Alroy J, Sahagian GG. Imagable 4T1 model for the study of late stage breast cancer. BMC Cancer. 2008; 9(8):1-11.
25. Jones LW1, Viglianti BL, Tashjian JA, Kothadia SM, Keir ST, Freedland SJ, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. J Appl Physiol (1985). 2010; 108(2):343-8.
26. Yazdi MH, Mahdavi M, Faghfouri E, Faramarzi MA, Sepehrizadeh Z, Hassan ZM, et al. Th1 Immune Response Induction by Biogenic Selenium Nanoparticles in Mice with Breast Cancer: Preliminary Vaccine Model. Iran J Biotechnol. 2015; 13(2); 1-9.
27. Kojouri GA, Sadeghian S, Mohebbi A, Mokhber Dezfouli MR. The effects of oral consumption of selenium nanoparticles on chemotactic and respiratory burst activities of neutrophils in comparison with sodium selenite in sheep. Biol Trace Elem Res. 2012; 146(2):160-6.
28. Zhang SY, Zhang J, Wang HY, Chen hy.Synthesis of selenium nanoparticles in the presence of polysaccharides. Materials Letters. 2004; 58(21: 2590–2594.
29. Riggs CE Jr, Michaelides MA, Parpa KM, Smith-Blair NJ. The effects of aerobic interval training on the left ventricular morphology and function of VLCAD-deficient mice. Eur J Appl Physiol. 2010; 110(5):915-23.
30. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux TL, McClellan JL, Steiner JL, Carmichael MD, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3(1)SV40Tag mice. Cytokine. 2011; 55(2):274-9.
31. Conner JD, Wolden-Hanson T, Quinn LS. Assessment of murine exercise endurance without the use of a shock grid: an alternative to forced exercise. J Vis Exp. 2014; 14: (90):1-5.
32. Quinn LS, Anderson BG, Conner JD, Wolden-Hanson T. IL-15 overexpression promotes endurance, oxidative energy metabolism, and muscle PPARδ, SIRT1, PGC-1α, and PGC-1β expression in male mice. Endocrinology. 2013; 154(1):232-45.
33. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976; 72 (2):248-54.
34. Zielinski MR, Muenchow M, Wallig MA, Horn PL, Woods JA. Exercise delays allogeneic tumor growth and reduces intratumoral inflammation and vascularization. Journal of Applied Physiology. 2004; 96(6):2249-56.
35. Amani Shalamzari S, Agha-Alinejad H, Alizadeh S, Shahbazi S, Kashani Khatib Z, Kazemi A et al. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. Iran J Basic Med Sci. 2014; 17(4): 231–258.
36. Woods JA, Davis JM, Kohut ML, Ghaffar A, Mayer EP, Pate RR. Effects of exercise on the immune response to cancer. Medicine and science in sports and exercise. 1994; 26(9):1109.

37. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Nat Rev Immunol. 201 5;11(9):607-15.
38. McTiernan A. Mechanisms linking physical activity with cancer. Nat Rev Cancer. 2008;8(3):205-11.
39. McTiernan A. Physical activity after cancer: physiologic outcomes. Cancer Invest. 2004;22(1):68-81.
40. Spence RR, Heesch KC, Brown WJ. Exercise and cancer rehabilitation: a systematic review. Cancer Treat Rev. 2010;36(2):185-94.
41. Goh J, Niksirat N, Campbell KL. Exercise training and immune crosstalk in breast cancer microenvironment: exploring the paradigms of exercise-induced immune modulation and exercise-induced myokines. Am J Transl Res. 2014; 6(5):422-38.
42. Zeng H, Combs GF Jr. Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion. J Nutr Biochem. 2008; 19(1):1-7.
43. Molanouri Shamsi M, Chekachak S, Soudi S, Quinn LS, Rangbar K, Chenari J,et al. Combined effect of aerobic interval training and selenium nanoparticles on expression of IL-15 and IL-10/TNF-α ratio in skeletal muscle of 4T1 breast cancer mice with cachexia. Cytokine. 2017; 90 (1):100-108.
44. Burton JD, Bamford RN, Peters C, Grant AJ, Kurys G, Goldman CK. et al. A lymphokine, provisionally designated interleukin T and produced by a human adult T-cell leukemia line, stimulates T-cell proliferation and the induction of lymphokine-activated killer cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994; 24;91(11):4935-9.
45. Shimizu K, Kimura F, Akimoto T, Akama T, Tanabe K, Nishijima T,et al. Effect of moderate exercise training on T-helper cell subpopulations in elderly people. Exerc Immunol Rev. 2008; 2(1): 24-37.
46. Ogawa K, Oka J, Yamakawa J, Higuchi M. Habitual exercise did not affect the balance of type 1 and type 2 cytokines in elderly people. Mech Ageing Dev. 2003; 124: (8-9); 951-956.
47. Drela N, Kozdron E, Szczypiorski P. Moderate exercise may attenuate some aspects of immunosenescence. BMC Geriatrics. 2004; 4(8); 1-7.

Original Article

Investigating The Effect of Aerobic Interval Training with Selenium Nanoparticles on the Content of IL-6, TNF-α and IL-4 cytokines in Spleen Tissue of Mice with Breast Cancer

Chekachak S[1], Molanouri Shamsi M [1*], Soudi S[2]

1. Physical Education & Sport Sciences Dept. Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Department of Immunology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 27 Dec 2016 Accepted: 05 Apr 2017

Abstract

Background & Objective: Cytokines are molecules that are related to immunologic responses. Considering the antioxidant and immunologic effects of selenium nanoparticles and aerobic exercise training, the aim of this study was to examine the effects of aerobic exercise training and supplementation with selenium nanoparticles on protein content of Interleukin-4, Interleukin-6 and tumor necrosis factor Alpha in spleen tissue in mice with breast cancer.

Material & Methods: 64 Balb/c mice were randomly divided into 8 groups including Control-Health, Control-Tumor, Training-Healthy, Training-Tumor, Selenium nanoparticles-Health, Selenium nanoparticles-Tumor, Selenium nanoparticles-Training-Health and Selenium nanoparticles–Training-Tumor. Animals in different groups passed 6 weeks aerobic interval training and supplementation with selenium nanoparticles before and after cancer induction. At the end of the sixth week, cytokines protein levels in spleen tissue were measured by ELISA method.

Results: Based on the current study results exercise training and selenium nanoparticles caused significant decrease in tumor volume ($P<0.05$). Also, results showed that cancer induced a significant decrease in cytokines levels in tumor tissue ($P<0.05$). But concurrent using selenium nanoparticles and aerobic interval training induced increase in tumor necrosis factor Alpha levels in spleen tissue ($P<0.05$).

Conclusion: It seems that aerobic exercise training and selenium nanoparticles supplementation could have an effective role in the activation of immune system and decreasing in tumor volume, with increasing in tumor necrosis factor Alpha as a T helper 1 cytokine.

Keywords: Aerobic training, Selenium nanoparticles, Cancer, Cytokine, Spleen

***Corresponding Author: Mahdieh Molanouri Shamsi,** Physical Education & Sport Sciences Dept. Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: molanouri@modares.ac.ir

Journal of Fasa University of Medical Sciences 8 (2018): 608-617