دانشگاه شهید بهشتی
فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
بهار و تابستان ۱۳۹۸، دوره ۱۲، شماره ۱، صفحه‌های:۱۲۷-۱۱۵

تاثیر هشت هفته تزریق IGF-1 و تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های COX-2 و p53 کولورکتال موش‌های صحرایی ویستار نر

بابی سان عسکری، ناهید بیژه*، امیر رشیدلمیر
دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۲۶ اصلاح مقاله: ۱۳۹۷/۰۲/۱۵ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۳/۰۸

چکیده

هدف: هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر هشت هفته تزریق IGF-1 و تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌هایCox-2 و p53 در بافت کولورکتال موش‌های صحرایی نر بود.

روش‌ها: در مجموع ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه شامل: تزریق سالین (کنترل)، تمرین مقاومتی+ تزریق سالین (تمرین)، تمرین مقاومتی+تزریق IGF-1 (ترکیبی)، تزریق IGF-1 (تزریق) تقسیم شدند. پروتکل تمرین مقاومتی (سه روز در هفته، ۵ تکرار در سه دوره) شامل هشت هفته بالا رفتن از نرده با حمل باری که به دم بسته می‌شد. IGF-1 و سالین (۱/۵ میکروگرم در هر کیلوگرم در روز) قبل و پس از جلسات ورزشی تزریق می‌شد. سه روز پس از آخرین جلسه فعالیت ورزشی، بافت‌های کولورکتال جمع آوری شد و سطوح بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی PCR ریل تایم اندازه‌گیری شد.

نتایج: در گروه‌های تمرین (p =۰/۰۰۱)، تزریق (p =۰/۰۰۲) و ترکیبی (p =۰/۰۰۱)، بیان ژن p53 در بافت کولورکتال نسبت به گروه کنترل بطور معناداری کاهش یافته بود (p <۰/۰۵). اما تفاوت بین گروه‌های تمرین، ترکیبی و تزریق با هم معنادار نبود (p >۰/۰۵). کاهش معناداری در سطوح بیان ژن Cox-2 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (p =۰/۰۰۲). سطوح Cox-2 بطور معناداری در گروه تزریق از گروه کنترل بالاتر بود (p =۰/۰۰۲). در گروه ترکیبی، سطوح Cox-2 بطور معناداری بالاتر از گروه تمرین بود (p =۰/۰۱۸).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج تحقیق، تزریق IGF-1 ممکن است موجب افزایش عامل خطر سرطان کولورکتال شود و بقای سلول‌های سالم در این بافت را دچار بحران کند. بنابراین، توصیه ما این است که احتمالاً استفاده از پپتیدها و عوامل رشدی مانند IGF-1 برای افزایش عملکرد، حجم و قدرت عضلانی مفید واقع نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین ورزشی، سرطان کولورکتال، عامل رشد شبه انسولین-۱، آپوپتوزیس.

*نویسنده مسئول: ناهید بیژه، شماره تماس: ۰۹۱۵۵۰۷۲۷۴۵، ایمیل: bijeh@ferdowsi.um.ac.ir

مقدمه

یکی از راهکارهای مفید برای بهبود ترکیب بدنی، هایپرتروفی تارهای عضلانی و افزایش قدرت عضلانی ناشی از تمرینات مقاومتی می‌باشد. یکی از علت‌های این موضوع افزایش هورمون‌های آنابولیکی است. در این زمینه محور آنابولیسمی هورمون رشد-عامل رشد شبه انسولینی (GH/IGF-1) اهمیت زیادی دارد. نشان داده شده است IGF-1 تکثیر و تمایز سلول عضله، تسهیل سنتز پروتئین عضله و مهار تخریب آن را تحریک می کند (۱). IGF-1 یکی از مهم‌ترین واسطه های رشد عضله و پس از آن بازسازی مؤثر بر عملکرد عضله که ناشی از عمل آنابولیکی IGF-1 و اثر مسیرهای پیام رسانی هایپرتروفیکی آن می‌باشد (۲). سهم IGF-1 به توده عضلانی و عملکرد در کل طول عمر به خوبی اثبات شده است. افزایش در IGF-1 mRNA عضله و سطوح پروتئینی با تمرینات قدرتی در بزرگسالان مسن گزارش شده است (۳، ۴). همچنین، در تحقیقی که روی موش‌ها انجام شد نشان داده شده که IGF-1 ممکن است به طور مستقیم در تحریک فرآیندهای مانند سنتز پروتئین و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای نقش داشته، که این منجر به هیپرتروفی عضلانی اسکلتی می‌شود (۳). IGF-1 به عنوان عواملی مؤثر بر p53 و Cox-2 خود نوعاً تحت تأثیر تغذیه (۵) و تمرینات ورزشی قرار می‌گیرد (۶). با توجه به اثرات بالای IGF-1 در افزایش هایپرتروفی عضلانی، قدرت عضلات و حفظ توده عضله (۷)، امروزه شواهد زیادی مبنی بر سوء استفاده از آن بصورت تزریق به تنهایی یا همراه با هورمون رشد در انواع ورزشکاران بویژه بدنسازان وزنه تمرینی وجود دارد (۸). با این وجود، تزریق IGF-1 ممکن است منجر به افزایش خطر سرطان کولورکتال در بافت روده سالم شود (۹). در حقیقت IGF-1 از مسیر PI3K[1] MAPK و[2] PKC می‌تواند موجب افزایش Cox-2 شود و موجب مهار p53 از مسیر پیام رسانی PI3-K، AKT و یوبیکیوتیناسیون[3] MDM2 [4] شود (۱۰). بر این اساس نیاز به افزایش دانش در مورد اثرات احتمالی تزریق IGF-1 بر عوامل مرتبط با سرطان کولورکتال مانند p53 وCox-2 در بافت روده وجود دارد. از طرفی دیگر، با توجه به اینکه کم تحرکی از عوامل ایجاد بسیاری از انواع سرطان‌ها بویژه سرطان کولورکتال می‌باشد (۱۱) و افرادی که دارای سطح فعالیت بالای ورزشی هستند ۸۲٪ کمتر از افراد کم تحرک خطر ابتلا به سرطان کولورکتال را دارند (۱۲)، مشخص نمودن اثر احتمالی تمرینات ورزشی بر بیان مقادیر Cox-2 و p53 روده ای، و همچنین اثر تمرینات ورزشی بر اثرات احتمالی تزریق IGF-1 در رابطه با عوامل مورد بررسی این تحقیق می‌تواند حائز اهمیت باشد. در مطالعه‌ای تمرین ورزشی در موش‌های فعال ماده نسبت به موش‌های بی تحرک موجب کاهش بیان Cox-2 قلبی شد (۱۳). با این وجود هشت هفته تمرین مقاومتی در موش‌های صحرایی دیابتی، موجب افزایش سطوح Cox-2 بافت قلب شد (۱۴). اخیراً در مطالعه‌ای اثر ده هفته تمرین استقامتی (۳۰ دقیقه در روز فعالیت روی نوار گردان، ۵ بار در هفته) و مقاومتی (تمرین قدرتی انقباض ایزومتریک با حجم کاری مشابه با گروه استقامتی) بر بیان ژن Cox-2 مغز موش‌های نر بررسی شد که بیان ژن Cox-2 هیپوتالاموس در هر دو گروه بالا رفته بود (۱۵). اگرچه کاهش سطوح p53 در بافت موش‌ها پس از یک دوره تمرین روی نوارگردان مشاهده شده است (۱۶, ۱۷) و همچنین کاهش سطوح p53 در سرم مردان تمرین کرده مقاومتی نسبت به افراد تمرین نکرده گزارش شده است (۱۸). در این رابطه تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر اثر احتمالی تزریق IGF-1 با و بدون تمرینات مقاومتی، بر بیان ژن-Cox 2و p53 وجود ندارد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین مقاومتی و تزریق IGF-1 بر بیان ژن‌های Cox-2 و p53 در بافت روده بزرگ موش‌های صحرایی نر انجام شد.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش

مطالعه حاضر بصورت نیمه تجربی با گروه دارونما و انتخاب تصادفی بود. نمونه‌های آماری پژوهش تجربی حاضر را ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن دوازده هفته‌ای و وزن ۳۰۸±۲۶/۱۶ گرم که از مرکز انستیتو پاستور خریداری شده بودند تشکیل دادند. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه به منظور آشنایی با محیط و کاهش استرس به مدت یک هفته نگهداری و سپس به مدت یک هفته دیگر نیز با نحوه فعالیت تمرین با وزنه آشنا شده و از هفته سوم تمرینات اصلی شروع شد.

پروتکل پژوهش

نمونه‌ها به طور تصادفی انتخاب و به تعداد مساوی به چهار گروه ۷ سری شامل: ۱- کنترل+دارونما (کنترل)، ۲-تمرین مقاومتی+دارونما (تمرین)، ۲ - تمرین مقاومتی همراه با تزریق IGF-1 (ترکیبی)، ۳- تزریق IGF-1 (تزریق) تقسیم شدند. نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه و در قفسه‌های ویژه جوندگان (هر قفس ۷ سر موش) از جنس پلی کربنات شفاف با درپوش فلزی که کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده می‌شود، تقسیم شده و در محیطی با دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۰ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲: ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در طی دوره پژوهش نیز حیوانات از غذای فشرده و آماده ویژه موش بطور یکسانی استفاده شد و آب مورد نیاز حیوان نیز به صورت آزاد و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس آن‌ها قرار می‌گرفت. در این پژوهش برای اینکه دارو با دوز دقیق و در زمان معین به حیوان تجویز شود، از سرنگ انسولین مدرج استفاده شد. در ابتدا هر یک از ویال‌های ۰/۱ میلی گرمی از پپتید IGF-1 LR3 با مشخصات (EURO BALTICA lab ,PHARMACEUTICALS,Batch No:A1 IGFPP67, 10 VIALS 0.1mg ،ساخت کشور مجارستان) را با یک میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده (یک میلی لیتر محلول بدست آمده مساوی است با ۱۰۰میکروگرم از (IGF-1 LR3) و سپس گروه‌های تمرین مقاومتی و تزریق، روزانه نیم ساعت قبل و بعد از تمرین، داروی IGF-1 را جمعاً با دوز متوسط (۱/۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) (۱۹) به صورت تزریق عمیق عضلانی در عضلات پشت ران دریافت نمودند. گروهی که فقط تزریق دارو داشت هیچگونه فعالیتی نداشتند و نیز همزمان با گروه تمرین مقاومتی همراه با دارو، تزریق را دریافت می‌کردند. گروه کنترل و گروه مقاومتی نیز سرم فیزیولوژی را به عنوان دارونما (با دوز مشابه داروی IGF-1) و همزمان با سایر گروه‌ها دریافت میکردند. کلیه مراحل اجرای این تحقیق توسط کمیته اخلاقی دانشگاه فردوسی به شماره ۲۱۲۴۷ تایید شده است.

برنامه تمرینی: برنامه تمرین مقاومتی شامل هشت هفته صعود از یک نردبان یک متری با شیب ۸۵ درجه بود. هر جلسه شامل سه نوبت با پنج تکرار می‌باشد که در فاصله هر تکرار یک دقیقه و در فاصله بین هر ست دو دقیقه استراحت در نظر گرفته میشد (۲۰). تمرین پس از بستن وزنه به دم موش صحرایی، انجام می‌شد. در هفته اول میزان وزنه‌های بسته شده به موش‌ها ۵۰ درصد وزن بدن آن‌ها بوده که به تدریج ۱۰ درصد در هر هفته افزایش یافته و به ۱۲۰ درصد وزن بدن آن‌ها در هفته پایانی می‌رسید (جدول۱) (۲۱). گروه‌های کنترل و بدون تمرین نیز جهت تجربه تمامی شرایط موجود در محل تمرینات حضور داشتند اما هیچ تمرینی را انجام ندادند.

جدول۱. پروتکل برنامه تمرینی مقاومتی به مدت هشت هفته

متغیر / هفته	جلسات در هفته	تکرار هر نوبت	استراحت بین تکرار (دقیقه)	تعداد نوبت	استراحت بین نوبت (دقیقه)	بار (درصدی وزن بدن)
هفته اول	۳	۵	۱	۳	۲	۵۰
هفته دوم	۳	۵	۱	۳	۲	۶۰
هفته سوم	۳	۵	۱	۳	۲	۷۰
هفته چهارم	۳	۵	۱	۳	۲	۸۰
هفته پنجم	۳	۵	۱	۳	۲	۹۰
هفته ششم	۳	۵	۱	۳	۲	۱۰۰
هفته هفتم	۳	۵	۱	۳	۲	۱۱۰
هفته هشتم	۳	۵	۱	۳	۲	۱۲۰

روش‌های آزمایشگاهی

نمونه‌ها ۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، از طریق تزریق کتامین (۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش و سپس قربانی شدند. بلافاصله بعد ازکالبدشکافی، بخش کلورکتال از بافت روده بزرگ جدا و با سالین شستشو تمیز ،وارد تیوپ‌های مخصوص گردیده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال ۸۰- درجه تا زمان اندازه‌گیری شاخص مورد نظر نگهداری شد. سطوح بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی Real time-PCR اندازه‌گیری شد.

جهت بررسی بیان ژن مراحل تخلیص[۵]RNA با به کار بردن کیت QIAGEN (RNA easy Mini Kit) به شماره کاتالوگ ۷۴۱۰۴ طبق دستور العمل شرکت سازنده از بافت روده بزرگ انجام شد. انسجام و کامل بودن RNA بوسیله استفاده از الکتروفورز، ژل آگاروز (سینا ژن، ایران) و مشاهده باند RNA بین دو باند ۱۸s و ۲۸s زیر نور U.V بررسی شد. برای تعیین کیفیت و غلظت RNA از دستگاه نانودراپ (thermo آمریکا) استفاده شد که نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۶ تا ۱/۸ بود، تمام مراحل کار زیر هود لامینار (ژال تجهیز، ایران) که از قبل آماده شده بود (استریل شده با الکل ۷۵ درصد و نور UV) انجام گرفت. در نهایت RNA بدست آمده، جهت ساخت cDNA به فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد منتقل گردید. سنتز cDNA با استفاده از یک میکروگرم از RNA با استفاده از کیت (QuantiTect ReverseTranscription Kit cDNA synthesis Qiagen) مطابق دستور کار شرکت سازنده، با استفاده از پرایمرهای تصادفی هگزامر Random hexamer (primer) در دستگاه ترموسایکلر (Bio Rad، USA) و آنزیم ترانس کرپیتاز معکوس MuLV Transcriptase Reverse صورت گرفت. محصول تولید شده بلافاصله در دمای ۲۰ºC - نگهداری شد.قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن طبق دستورالعمل تکنیک Real-Time PCR، میزان کارایی ژن مرجع و دو تا ژن‌های هدف بررسی

جدول۲.توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ژن‌های cox2،p53 وGAPDH

ژن	شماره ژن بانک	طول قطعه تکثیر شده	پرایمر	توالی
Cox-2	S67722.1	197	رفت	5´- CATTTGATTGACAGCCCACCA -3´
			برگشت	5´- AGTTCCTTATTTCCTTTCACACCC-3´
p53	NM -030989.3	78	رفت	5´- CCATCTACAAGAAGTCACAACAC -3´
			برگشت	5´- TGCCTGTCGTCCAGATACTC -3´
GAPDH	NM_017008.4	74	رفت	5´- AACCCATCACCATCTTCCAG -3´
			برگشت	5´- CACGACATACTCAGCACCAG -3´

شد که میزان کارایی برای این سه ژن در بالاترین میزان خود یعنی یک بود.

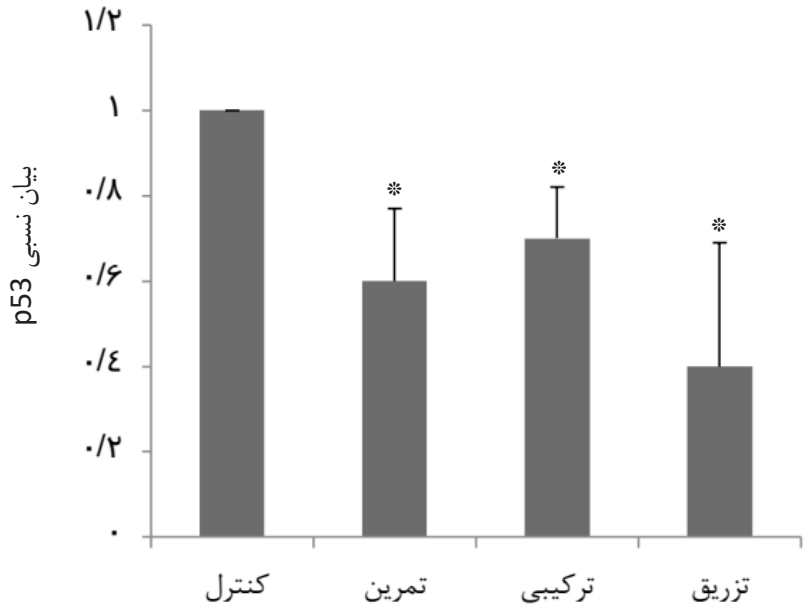
برای اندازه گیری سطوح بیان mRNA cox2 و p53 از روش کمی Real-Time PCR با استفاده از Primix Syber Green II انجام شد. مخلوط واکنش در حجم نهایی۲۰میکرولیتر شامل ۱میکرولیتر cDNA، ۱میکرولیتر آغازگر جلویی (Forward Primer)، ۱میکرولیتر آغازگر برگشتی (Revers)، ۷میکرولیتر آب DEPC و ۱۰ میکرولیتر و Syber Green و هر واکنش به صورت مضاعف (Duplicate) صورت پذیرفت. طراحی آغازگرها براساس اطلاعات ژن‌های cox2 ¡ GAPDH æp53 دربانک ژنی NCBI و توسط شرکت Qiagenآلمان انجام شد. ضمن اینکه از GAPDH به عنوان ژن مرجع استفاده شد. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل۹۵درجه سانتی گراد به مدت ۱۰دقیقه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ثانیه، ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱دقیقه تکرار(۴۰چرخه) بود. توالی آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۲ گزارش شده است.

تحلیل آماری

برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های Cox-2 و p53 از روش مقایسه‌ای $^{-\Delta\Delta CT}$ ۲ استفاده شد. جهت بررسی توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. با توجه به اینکه داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردار نبودند، برای مقایسه بین گروهی از آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس و جهت تعیین محل تفاوت از آزمون مان ویتنی،جهت تحلیل داده‌ها استفاده شد. همه محاسبات در سطح آماری p<۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از نرم افزارSPSS (نسخه ۲۲) جهت بررسی داده‌ها استفاده شد.

نتایج

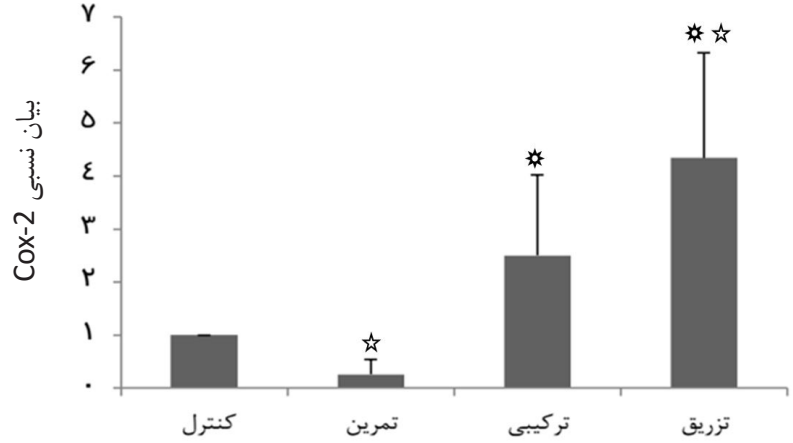
نتایج آزمون کروسکال والیس در مورد بیان ژن p53 نشان داد که بین گروه‌ها تفاوت معناداری وجود داشت (۱۶/۳۸۶=کای-۲) (p =۰/۰۰۱). همانطور که در شکل شماره ۱ نشان داده شده است، مقدار بیان ژن p53 هر سه گروه تمرین، ترکیبی و تزریق نسبت به گروه کنترل بطور معناداری پایین‌تر بود اما تفاوت بین گروه‌های تمرین، ترکیبی و تزریق با هم معنادار نبود (p >۰/۰۵).



شکل۱.میزان بیان ژن p53 بخش کولورکتال از بافت روده بزرگ در گروه‌های مختلف پژوهش (p<۰/۰۵)

***تفاوت معنادار با گروه کنترل (p <۰/۰۵)**

نتایج آزمون کروسکال والیس در مورد بیان ژن Cox-2 نیز تفاوت معنادار بین گروه‌ها را نشان داد (۱۷/۴۸۴=کای-۲) (p=۰/۰۰۱) که این تفاوت‌ها در شکل شماره ۲ نشان داده شده است. در گروه تمرین میانگین بیان ژن Cox-2 از همه گروه‌ها پایین‌تر بود. در گروه تزریق بیان ژن Cox-2 از گروه‌های کنترل و تمرین بالاتر بود اما با وجود مقادیر بالای آن نسبت به گروه ترکیبی، این تفاوت معنادار نبود. بیان ژن Cox-2 در گروه ترکیبی نسبت به گروه تمرین بطور معناداری بالاتر بود (p <۰/۰۵) ولی نسبت به گروه کنترل و تزریقی تفاوت معناداری نداشت (p >۰/۰۵).



شکل۲.میزان بیان ژن Cox-2 بخش کولورکتال از بافت روده بزرگ در گروه‌های مختلف پژوهش (p<۰/۰۵)

☆تفاوت معنادار با گروه کنترل (p <۰/۰۵)

✡ تفاوت معنادار با گروه تمرین(p <۰/۰۵)

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از تحقیقات متعدد، علاقه به مصرف مواد مختلف نیروزا برای افزایش عملکرد ورزشی در سطوح ملی و بین المللی رو به افزایش است (۲۲). مهم‌ترین نتایج تحقیق نشان داد که تزریق IGF-1 موجب افزایش بیان ژن Cox-2 و کاهش p53 بافت روده بزرگ شد. تمرین ورزشی موجب کاهش بیان ژن Cox-2 و p53 شد. همچنین تمرین ورزشی در حضور تزریق IGF-1 نتوانسته است مانع از افزایش Cox-2 و کاهش p53 شود.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که بیان ژن‌های مربوط به Cox-2 به عنوان آنزیم ایجاد تومور و پیشرفت آن، در اغلب سرطان‌های کولورکتال بالا می‌باشد (۲۳) و p53 به عنوان عامل القای آپوپتوز، می‌توانند در کاهش تومور و جلوگیری از پیشرفت آن عمل کند (۲۴). در این میان، IGF-1 می‌تواند با افزایش Cox-2 و مهار p53 روند تشکیل و گسترش سرطان را پیچیده‌تر کند (۱۰) و تزریق IGF-1 با احتمال افزایش خطر سرطان کولورکتال در بافت روده سالم همراه است (۹). اگرچه اهمیت عوامل مذکور بر سرطان کولورکتال تا حدودی مشخص شده است اما مشخص نبودن اثر تمرینات ورزشی بر این متغیرها و گسترش سوء استفاده از تزریق IGF-1 در میان ورزشکاران قدرتی، ضرورت انجام مطالعه حاضر را ایجاد کرد. در مدل تجربی مطالعه حاضر، ۸ هفته تزریق IGF-1 با و بدون تمرین ورزشی مقاومتی بر بیان ژن‌های Cox-2 و p53 روی موش‌های نر ویستار بررسی شد. تابه حال در هیچ مطالعه‌ای اثر تزریق IGF-1 روی بیان ژن‌های Cox-2 و p53 بافت روده بزرگ و تداخل تمرین ورزشی مقاومتی بر این عوامل بررسی نشده است.

مطالعه حاضر نشان داد که یک دوره تمرین مقاومتی موجب کاهش بیان ژن Cox-2، که نقش اصلی را به عنوان عامل تشخیصی برای سرطان بازی می‌کند (۲۵)، نسبت به گروه کنترل در بافت روده بزرگ شده است. با توجه با این که مهار آنزیم Cox-2 می‌تواند به عنوان یک راهبرد مهم و امید بخش در پیشگیری و کنترل سرطان‌ها بویژه سرطان کولورکتال داشته باشد (۲۶)، بنابراین تمرین مقاومتی با کاهش این عامل و جلوگیری از افزایش نسبی آن، که با تزریق IGF-1 (۱/۵۲±۲/۵۰ در گروه ترکیبی نسبت به ۱/۹۸±۴/۳۴ گروه تزریق) حاصل می‌شود، می‌تواند اثر مفیدی در این زمینه داشته باشد. سازوکار این کاهش ناشی از تمرین مقاومتی و جلوگیری از افزایش آن به وسیله تزریق IGF-1 مشخص نیست و هدف از مطالعه حاضر نیز بررسی این سازوکارها نبود. بهرحال با توجه به اینکه تمرینات ورزشی باعث کاهش عوامل التهابی (۲۷) و متابولیت‌های این آنزیم (مانند PGI2[۶]) می‌شود (۲۸)، احتمالاً تمرین ورزشی با این سازوکار اثرگذار بوده است، با این وجود مطالعات دیگری باید به بررسی این موضوع بپردازند. با توجه به نبود مطالعه‌ای شبیه به تحقیق حاضر، مقایسه نتایج با سایر مطالعات میسر نیست با این وجود و همسو با نتیجه مطالعه حاضر، گزارش شده است که تمرین ورزشی در موش‌های فعال ماده نسبت به موش‌های بی تحرک می‌تواند موجب کاهش بیان Cox-2 قلبی شود (۱۳). در تحقیقی که تأثیر ۶ هفته تمرین استقامتی و مصرف عصاره آلوئه ورا بر MMP-9[۷] و Cox-2 در موش‌های مبتلا به سرطان سینه بررسی شد، نتایج حاکی از کاهش Cox-2 در گروه‌های تمرین و عصاره بود ولی تنها درگروه عصاره به سطح معناداری رسید (۲۹). با این وجود، هشت هفته تمرین مقاومتی در موش‌های صحرایی دیابتی، موجب افزایش سطوح Cox-2 بافت قلب شد که محققان علت احتمالی این افزایش را به غلظت زیاد گلوکز، به عنوان عامل افزایش Cox-2 (۳۰) و التهاب بالای آزمودنی‌های دیابتی نسبت دادند (۱۴). اخیراً در مطالعه‌ای اثر ده هفته تمرین استقامتی (۳۰

دقیقه در روز فعالیت روی نوارگردان، ۵ بار در هفته) و مقاومتی (تمرین قدرتی انقباض هم طول با حجم کاری مشابه با گروه استقامتی) بر بیان ژن Cox-2 مغز موش‌های نر بررسی شد. نتایج نشان داد که بیان ژن Cox-2 هیپوتالاموس در هر دو گروه بالا رفته بود که محققان دلیل احتمالی آن را حساس بودن بافت مغزی به التهاب‌های ایجاد شده در هر جلسه تمرین و اثرات تجمعی آن پیشنهاد کردند و آن را مختص مغز دانستند چون در بافت‌های دیگر سازوکارهای التهابی با تمرین دراز مدت ایجاد می‌شود (۱۵).

نتیجه دیگر مطالعه حاضر افزایش چند برابری Cox-2 در گروه تزریق بود که با توجه با اثرات فیزیولوژیکی شناخته شده IGF-1 تا حدی قابل پیش بینی بود. این نتیجه نشان می‌دهد که مقادیر بالای IGF-1 که برخی از ورزشکاران بدنسازی آن را بصورت تزریق دریافت می‌کنند تا چه حدی می‌تواند یک شاخص سرطانی و التهابی را در آنان بالا ببرد. نکته قابل توجه دیگر این است که اگرچه تمرین توانسته است این افزایش را تعدیل کند، اما بازهم قادر به جلوگیری کامل از افزایش آن نشده است. بنابراین نتیجه مطالعه حاضر این نظریه رایج بین ورزشکاران که تمرین می‌تواند باعث جذب و یا پاکسازی IGF-1 تزریقی در بدن شود را تایید نمی کند.

سرکوب‌کننده تومور، یک حسگر عمومی برای تشخیص آسیب DNA است (۲۴). آسیب DNA منجر به تجمع پروتئین p53 و تسهیل ترمیم DNA توسط پروتئین فوق می‌شود. اگر این مسیر داخل هسته‌ای با موفقیت انجام نشود در آن صورت پروتئین p53 باعث تغییر و آغاز نسخه برداری عوامل کمک‌کننده آپوپتوز خواهد شد. بنابراین، اگر فشارهای وارده به سلول و DNA اندک باشد، p53 در حالت کم و یا فیزیولوژیکی یک عامل محافظتی سلول محسوب می‌شود ولی اگر آسیب شدید یا طولانی شود، p53 خود یک عامل پیش آپوپتوزی خواهد بود (۲۴، ۳۱).

طبق نتایج دیگر مطالعه ما، تمرین باعث کاهش بیان بافتی ژن p53 شد. کاهش سطوح این پروتئین در بافت موش‌ها پس از یک دوره تمرین روی نوارگردان (۱۶، ۱۷) و سرم مردان تمرین کرده مقاومتی (۱۸) نسبت به افراد تمرین نکرده نیز گزارش شده است. از آنجایی که عامل اصلی افزایش p53 فشار ناشی از فشارهای اکسایشی است (۳۲)، بطور مشترکی در مطالعات قبلی پیشنهاد شده است که تمرین منظم احتمالاً با کاهش فشارهای اکسایشی و بالابردن ضد اکسایندەهای بدن در کاهش p53 نقش ایفا کرده است (۱۶، ۱۸) که این سازوکار ممکن است در نتیجه مطالعه ما نیز اثرگذار بوده باشد. در مطالعه حاضر همانطور که انتظار می‌رفت تزریق IGF-1 موجب کاهش بیان p53 چندین برابر بیشتر از گروه کنترل و تمرین شد. جالب اینجاست که کاهش p53 در گروه ترکیبی تعدیل شده است و تمرین ورزشی این فرایند را تعدیل کرده است. نکته مهم قابل بحث در اینجا این است که اگرچه کاهش p53 نشانه کاهش فشارهای سلولی و آسیب DNA است که از اثرات مفید تمرینات ورزش در حفاظت از حیات سلول‌های سالم می‌باشد و می‌تواند بازیافت سلول‌ها بعد از فشارهای ورزشی را بهتر فراهم کند اما به نظر می‌رسد کاهش بیش از حد p53 مطلوب محیط بافتی نیست و در این مطالعه نیز تمرین مقاومتی مانع از کاهش زیاد p53 شده است. زیرا همانطور که پیشتر ذکر شد، مقادیر فیزیولوژیکی p53 جهت حفاظت و تسهیل ترمیم آسیب DNA ضروری است (۳۱). با این حال، در افرادی که دچار تومور سرطانی هستند افزایش p53 بافتی جهت نابودی سلول‌های سرطانی می‌تواند مد نظر ما باشد که در این باره باید مطالعات بعدی روی اثر تمرین ورزشی بر مقدار p53 در بافت سرطانی متمرکز شود. در هر صورت تزریق IGF-1 از این نظر نیز می‌تواند اثری منفی بر هومئوستاز سلولی و حیات آن‌ها در شرایط فشارهای

سلولی بگذارد.

به طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هشت هفته تزریق IGF-1 احتمالا موجب افزایش بیان ژن Cox-2 و کاهش p53 نسبت به گروه کنترل در کولورکتال موش‌ها می‌شود. همچنین هشت هفته تمرین مقاومتی ممکن است موجب کاهش Cox-2 و p53 شود و در صورتی که با تزریق IGF-1 همراه باشد موجب تعدیل افزایش بیان ژن Cox-2 و کاهش p53 ناشی از آن در کولورکتال موش‌ها می‌گردد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که تزریق IGF-1 ممکن است موجب افزایش عامل خطر سرطان کورکتال شود و بقای سلول‌های سالم در این بافت را دچار بحران کند. همچنین تمرین ورزشی به عنوان عاملی مؤثر اثرات سوء تزریق را تا حدی تعدیل نماید. بنابراین توصیه برآن است که ورزشکاران نباید از پپتیدها از جمله IGF1 برای افزایش عملکرد، حجم و قدرت عضلانی استفاده نمایند.

پی نوشت‌ها

[1] Mitogen-activated protein kinase

[2] Protein kinase C

[3] Ubiquitination

[4] Minute 2 homolog

[5] Ribonucleic acid

[6] Prostaglandin 2

[7] Matrix metallopeptidase 9

منابع

1. Clemmons, D.R., Role of IGF-1 in skeletal muscle mass maintenance. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2009. 20(7): p. 349-356.
2. Collett-Solberg, P.F. and P. Cohen, Genetics, chemistry, and function of the IGF/IGFBP system. Endocrine, 2000. 12(2): p. 121-136.
3. Shahjee a N, Bhattacharyya a G, Zappala a M, Wiench b S, Prakash a M,Rechler a. An N-terminal fragment of insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) induces apoptosis in human prostate cancer cells in an IGF-independent manner. Growth Hormone & IGF Research, 2008. 18(3): p. 188-197.
4. Taekema DG, Ling CH, Blauw GJ, Meskers CG, Westendorp RG, de Craen AJ, et al. Circulating levels of IGF1 are associated with muscle strength in middle-aged-and oldest-old women. European Journal of Endocrinology, 2011. 164(2): p. 189-196.
5. Kaaks, R. and A. Lukanova, Energy balance and cancer: the role of insulin and insulin-like growth factor-I. Proceedings of the Nutrition Society, 2001. 60(1): p. 91-106.
6. Giovannucci, E., Insulin, insulin-like growth factors and colon cancer: a review of the evidence. The Journal of nutrition, 2001. 131(11): p.

3109S-3120S.
7. Herndon DN, Ramzy PI, DebRoy MA, Zheng M, Ferrando AA, Chinkes DL, et al. Muscle protein catabolism after severe burn: effects of IGF-1/IGFBP-3 treatment. Annals of surgery, 1999. 229(5): p. 713.
8. Holt, R. and P. Sönksen, Growth hormone, IGF-I and insulin and their abuse in sport. British journal of pharmacology, 2008. 154(3): p. 542-556.
9. Sandhu, M.S., D.B. Dunger, and E.L. Giovannucci, Insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF binding proteins, their biologic interactions, and colorectal cancer. Journal of the National Cancer Institute, 2002. 94(13): p. 972-980.
10. Levine AJ, Feng Z, Mak TW, You H, Jin S. Coordination and communication between the p53 and IGF-1–AKT–TOR signal transduction pathways. Genes & Development, 2006. 20(3): p. 267-275.
11. Devin JL, Bolam KA, Jenkins DG, Skinner TL. The influence of exercise on the insulin-like growth factor axis in oncology: physiological basis, current, and future perspectives. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 2015. 25(2): p. 239-49.
12. Yamauchi M, Lochhead P, Imamura Y, Kuchiba A, Liao X, Qian ZR, et al . Physical activity, tumor PTGS2 expression, and survival in patients with colorectal cancer. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 2013. 22(6): p. 1142-52.
13. Olivera FD, Maifrino L, Jesus GPD, Carvalho JG, Marchon C, Ribeiro DA. The role of cyclooxygenase-2 on endurance exercise training in female LDL-receptor knockout ovariectomized mice. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 2013. 85(3): p. 1157-1164.
14. Gaeini AA, Bahramian A, , Javidi M. The effect of eight weeks of resistance training on stimulatory and inhibitory factors of cardiac microvascular in juries in wistar diabetic rats, Metabolism and Exercise. 2013.3(1): p. 21-32. [In Persian]
15. Krüger K, Bredehöft J, Mooren FC, Rummel C. Different effects of strength and endurance exercise training on COX-2 and mPGES expression in mouse brain are independent of peripheral inflammation. Journal of Applied Physiology, 2016. 121(1): p. 248-254.
16. Qi Z, He J, Zhang Y, Shao Y, Ding S. Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. Free Radical Biology and Medicine, 2011. 50(7): p. 794-800.
17. Dashtiyan A A, Afzalpour M E, Tanideh N, Sepehrimanesh M. The comparison

of the effect of vitamin E on the expression of p53/PTEN of prostate gland of male rats in two groups of intensive continuous and intermittent exercise training. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2017; 7 (3) :406-415. [In Persian]

18. Sharafi, H. and R. Rahimi, The effect of resistance exercise on p53, caspase-9, and caspase-3 in trained and untrained men. The Journal of Strength & Conditioning Research, 2012. 26(4): p. 1142-1148.
19. Adams, G.R. and S.A. McCue, Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. Journal of Applied Physiology, 1998. 84(5): p. 1716-1722.
20. Karbasi S, Zaeemi M, Mohri M, Rashidlamir A, Moosavi Z. Effects of testosterone enanthate and resistance training on myocardium in Wistar rats; clinical and anatomical pathology. Andrologia, 2017. 3)50): p. 1-5.
21. Sukho, L. and F. Roger, Resistance training, muscle mass and function in the rats. Journal of Exercise Physiology, 2003. 62: p. 80-87.
22. Alshammari, S.A., M.A. AlShowair, and A. AlRuhaim, Use of hormones and nutritional supplements among gyms' attendees in Riyadh. Journal of family & community medicine, 2017. 24(1): p. 6.
23. Iwama, T., NSAIDs and colorectal cancer prevention. Journal of gastroenterology, 2009. 44: p. 72-76.
24. Attardi, L.D., The role of p53-mediated apoptosis as a crucial anti-tumor response to genomic instability: lessons from mouse models. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2005. 569(1): p. 145-157.
25. Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, Woerner B, Khan KN, Masferrer J, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. Cancer, 2000. 89(12): p. 2637-2645.
26. Stoehlmacher, J. and H.-J. Lenz. Cyclooxygenase-2 inhibitors in colorectal cancer. in Seminars in oncology. 2003. Elsevier.
27. Mogharnasi M, Gaeini A, Vatani DS, Faraji H. Effects of aerobic and anaerobic training on inflammatory markers in rats. Medicina Dello Sport, 2011. 64(1): p. 21-30.
28. Hansen AH, Nyberg M, Bangsbo J, Saltin B, Hellsten Y. Exercise training alters the balance between vasoactive compounds in skeletal muscle of individuals with essential hypertension. Hypertension, 2011. 58(5): p. 943-949.
29. Barari A, Mojhde M, Farzanegi P, Ghasemi M .Effect of Six Weeks of Endurance Training and Aloe Vera on

COX-2 and MMP-9 Levels in Mice with Breast Cancer. SSU_Journals, 2016. 24(1): p. 65-73. [In Persian]

30. Renna NF, Diez ER, Lembo C, Miatello RM. Role of Cox-2 in vascular inflammation: an experimental model of metabolic syndrome. Mediators of inflammation, 2013.
31. Dashzeveg N, Taira N, Lu Z, Kimura J, Yoshida K .Palmdelphin, a novel target of p53 with Ser46 phosphorylation, controls cell death in response to DNA damage. Cell Death and Disease, 2014. 5: p. e1221.
32. Liu, B., Y. Chen, and D.K.S. Clair, ROS and p53: a versatile partnership. Free Radical Biology and Medicine, 2008. 44(8): p. 1529-1535.

Shahid Beheshti University

Sport and Exercise Physiology

Spring & Summer 2019/ No.1/ Vol. 12/ Pages: 115-127

The effect of 8 weeks IGF-1 injection and resistance training on Cox-2 and p53 expression in colorectal of male Wistar rats

Babisan Askari, **Nahid Bijeh***, **Amir Rashid Lamir**

Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received:16/01/2018 Revised:05/05/2018 Accepted:29/05/2018

Abstract

Purpose: The aim of this study was to determine the effect of 8 weeks IGF-1 injection and resistance training on Cox-2 and p53 expression in colorectal of male Wistar rats

Methods: A total of 28 male Wistar rats were randomly divided into 4 groups; saline injected control (Control), resistance training+saline injected (Training), resistance training+IGF-1 injected (Combined) and IGF-1 injected (Injection). Resistance training protocol consisted of climbing (three days/week, 5 reps/3 sets) a ladder carrying a load suspended from the tail for 8 weeks. IGF-1 and Three days after the last.saline (1.5 µg /kg/day) were injected before and after exercise sessions bout of exercise, colorectal tissues were collected and gene expression levels were analyzed using Quantitative real-time PCR.

Results: In Training ($p=0.001$), Combined ($p=0.001$) and Injection ($p=0.002$) groups, p53 expression in the colorectal significantly decreased compared with Control ($p<0.05$). However, there was no significant difference between training, combined and injection groups ($p>0.05$). A significant decrease of Cox-2 protein levels was observed in the Training group from the Control ($p=0.002$). Cox-2 levels were significantly higher in Injection group compared to Control group ($p=0.002$). In the Combined group, Cox-2 levels were significantly higher compared to Training group ($p=0.018$)

Conclusion: According to the results of the study, IGF-1 injection may increase the risk of colorectal cancer and will endanger the survival of healthy cells in this tissue. our recommendation is that the use of peptides and growth factors such as IGF1 may not be useful for increasing muscle function, size and muscle strength.

Keywords: Exercise training, Colorectal cancer, Insulin- like growth factor-1, Apoptosis.

*Corresponding author: Nahid Bijeh.Tel:09155072745.E-Mail: bijeh@ferdowsi.um.ac.ir