

Research Paper

The effect of six weeks of aerobic training and consumption of pineapple extract on HSP70 and CD147 gene expression in tumor tissues of mice with melanoma cancer

Maryam Movassagh¹, Hossein Abednatanzi^{2*}, Mandana Gholami², Farshad Ghazalian²

Receive Date: 10 July 2025

Revise Date: 20 October 2025

Accept Date: 21 October 2025

ABSTRACT

Objective: Targeted therapy of growth and immune factors may lead to more effective inhibition of tumor proliferation and progression in melanoma cancer. The aim of this study was to study the effect of six weeks of aerobic exercise and pineapple extract consumption on the expression of heat shock protein 70 and extracellular matrix metalloproteinase inducer (CD147) in tumor tissue in mice with melanoma cancer

Methodology: This basic-laboratory study was conducted on 20 male C57BL/6 mice with melanoma cancer in four groups including control, aerobic exercise, pineapple extract, and aerobic exercise-pineapple. After tumor induction, the exercise program was performed for six weeks and pineapple extract was gavage at a dose of 300 mg/kg. The weight and volume of the mice's tumors and the expression of HSP70 and CD147 genes in tumor tissue were measured by RT-PCR, and the data were analyzed using one-way analysis of variance, two-way analysis of variance, and post hoc analysis. The significance level was considered to be $P \leq 0.05$.

Results: Based on the results, a significant decrease in tumor volume and a decrease in HSP70 and CD147 gene expression in tumor tissue were observed in the aerobic exercise and pineapple exercise groups

Conclusion: Moderate-intensity aerobic exercise with pineapple extract, with positive effects such as a decrease in body weight and tumor volume, by reducing HSP70 and CD147 gene expression in tumor tissue, probably leads to a slowdown in the progression of melanoma and helps regulate growth and immune factors in melanoma.

Keywords: aerobic exercise, pineapple, melanoma cancer, HSP70, CD147

1. Ph. D Student of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Science, SR.C, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Physical Education and Sport Science, SR.C, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Corresponding author's e-mail address: abednatanzi@iau.ir

Cite this article: Movassagh, M., Abednatanzi, H., gholami, M., Ghazalian, F. The effect of six weeks of aerobic training and consumption of pineapple extract on HSP70 and CD147 gene expression in tumor tissues of mice with melanoma cancer. *Metabolism and Exercise*, 2025; 15(2): 140-160.

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2025.31148.417>

Extended Abstract

Introduction and State of Problem

Melanoma is one of the most aggressive and treatment-resistant types of cancer worldwide. Targeted modulation of growth and immune-regulatory factors may provide more effective inhibition of tumor proliferation and progression. Heat shock protein 70 (HSP70) has been linked with tumor initiation, progression, and survival in various cancers, while extracellular matrix metalloproteinase inducer (CD147), also known as Basigin, plays a critical role in tumor invasion, apoptosis resistance, and glycolytic metabolism. Molecular studies suggest that HSP70 subunits stabilize the CD147 protein by inhibiting ubiquitin-proteasome degradation, thereby suppressing lactate formation and glycolysis, which in turn can inhibit tumor cell metastasis and migration. However, no previous research has directly examined the effects of aerobic exercise and pineapple extract on HSP70 and CD147 gene expression in melanoma tumor tissue. Thus, this study aimed to investigate the effects of six weeks of aerobic training and pineapple extract administration on HSP70 and CD147 gene expression in tumor tissue of melanoma-bearing C57BL/6 mice.

Methodology

Thirty-two male C57BL/6 mice (6–8 weeks old, 12–14 g) were purchased from the Pasteur Institute and randomly divided into four groups (n=8 each): Control, Aerobic Exercise, Pineapple Extract, and Aerobic Exercise + Pineapple Extract. After one week of acclimatization, melanoma cells were injected subcutaneously. One week after tumor formation, the intervention began. The aerobic training consisted of treadmill running for six weeks (5 sessions/week), with progressive intensity from 6 to 16 m/min (69–81% VO₂max) for 20–30 min per session. Pineapple extract was administered orally at 300 mg/kg body weight daily. Tumor volume was measured weekly with a digital caliper using the formula $V = \pi/6 \times (w \times L^2)$. After six weeks, animals were sacrificed, and tumor tissues were collected for RT-PCR analysis of HSP70 and CD147 gene expression. Data were analyzed using one-way and two-way ANOVA with Bonferroni post-hoc tests ($P \leq 0.05$).

Results

Aerobic exercise and pineapple extract led to a reduction in both tumor volume and gene expression of HSP70 and CD147, with the combined intervention producing the most significant decrease ($P < 0.01$).

Variabel	Groups	Mean	Standard Deviation	Significance Level
Weight(gr)	control	15.1	8.9	0.001
	exercise	15.87	1	
	pinapple	14.1	5.29	
	E&P	14.1	8.48	
Tumor Volume (MM3)	control	3799.882	81.44	0.001
	exercise	2804.799	771.79	
	pinapple	2694.739	64.22	
	E&P	1093.774	38.13	
HSP70 Fold)	control	1.00	0.00	0.001
	exercise	0.035	0.002	

(cheng	pinapple	0.25	0.07	
	E&P	0.031	0.026	
CD147	control	1.00	0.00	
(Fold	exercise	0.63	0.22	
cheng)	pinapple	0.33	0.25	0.002
	E&P	0.24	0.21	

Discussion and Conclusion

moderate intensity aerobic exercises with pineapple extract, despite the positive functional effects such as reducing body weight and reducing tumor volume, by reducing the expression of HSP70 and CD147 genes in tumor tissue, can probably lead to slowing down the progress of melanoma disease and regulating the factors growth and immunity in melanoma cancer and be considered as a promising and effective strategy for cancer prevention and treatment. This study received no funding from public, commercial, or non-profit Organizations.

Originality/Value

This research is the first to investigate the synergistic effect of combined exercise and a novel extract on melanoma, no previous research has directly examined the effects of aerobic exercise and pineapple extract on HSP70 and CD147 gene expression in melanoma tumor tissue.

Research Limitations/Implications

Controlling the diet, calculating calories, and directly measuring aerobic power can be performed with greater accuracy

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

Funding

This study received no funding from public, commercial, or non-profit Organizations

Authors' contribution

All authors contributed to the design, implementation, and writing of all parts of the present study.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to the people who participated in this study and to their research staff.

References

- Schadendorf, D., Fisher, D. E., Garbe, C., Gershenwald, J. E., Grob, J. J., Halpern, A., ... & Hauschild, A. (2015). Melanoma. Nature reviews Disease primers, 1(1), 1-20. [<https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.3>]
- Lawrence, M. S., Stojanov, P., Polak, P., Kryukov, G. V., Cibulskis, K., Sivachenko, A., ... & Getz, G. (2013). Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. Nature, 499(7457), 214-218. [<https://doi.org/10.1038/nature12213>]
- Jones, O. T., Jurascheck, L. C., Van Melle, M. A., Hickman, S., Burrows, N. P., Hall, P. N., ... & Walter, F. M. (2019). Dermoscopy for melanoma detection and triage in primary care: a systematic review. BMJ open, 9(8), e027529. [<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-027529>]
- Jayaraj, G. G., Hipp, M. S., & Hartl, F. U. (2020). Functional modules of the proteostasis network. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 12(1), a033951. [[Link](#)]

5. Hipp, M. S., Kasturi, P., & Hartl, F. U. (2019). The proteostasis network and its decline in ageing. *Nature reviews Molecular cell biology*, 20(7), 421-435. [<https://doi.org/10.1038/s41580-019-0101-y>]
 6. Thorsteinsdottir, J., Stangl, S., Fu, P., Guo, K., Albrecht, V., Eigenbrod, S., ... & Schichor, C. (2017). Overexpression of cytosolic, plasma membrane bound and extracellular heat shock protein 70 (Hsp70) in primary glioblastomas. *Journal of neuro-oncology*, 135, 443-452. [<https://doi.org/10.1007/s11060-017-2600-z>]
 7. Wu, J., Liu, T., Rios, Z., Mei, Q., Lin, X., & Cao, S. (2017). Heat shock proteins and cancer. *Trends in pharmacological sciences*, 38(3), 226-256. [<https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.11.009>]
 8. Min, X., Zhang, X., Li, Y., Cao, X., Cheng, H., Li, Y., ... & Ding, Z. (2020). HSPA12A unstabilizes CD147 to inhibit lactate export and migration in human renal cell carcinoma. *Theranostics*, 10(19), 8573. [<https://doi.org/10.7150/thno.44321>]
 9. Fridman, W. H., Pagès, F., Sautès-Fridman, C., & Galon, J. (2012). The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nature Reviews Cancer*, 12(4), 298-306. [<https://doi.org/10.1038/nrc3245>]
 10. Yin, H., Shao, Y., & Chen, X. (2017). The effects of CD147 on the cell proliferation, apoptosis, invasion, and angiogenesis in glioma. *Neurological Sciences*, 38, 129-136. [<https://doi.org/10.1007/s10072-016-2727-2>]
-

**تأثیر شش هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بر بیان ژن HSP70 و CD147 بافت
تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما**

مریم موثق 1 حسین عابدنطنزی 2 ماندانا غلامی 3 فرشاد غزالیان 3

تاریخ پذیرش: 29 مهر 1404

تاریخ بازنگری: 28 مهر 1404

تاریخ دریافت: 19 تیر 1404

چکیده

هدف: هدف این پژوهش مطالعه تأثیر شش هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بر بیان ژن پروتئین شوک گرمایی 70 و القاء‌کننده متالوپروتئیناز ماتریکس خارج سلولی (CD147) بافت تومور در موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما بود.

روش‌شناسی: این مطالعه بنیادی-تجربی بر روی 20 سر موش‌های نر نژاد C57BL/6 مبتلا به سرطان ملانوما در چهار گروه شامل کنترل، تمرین هوازی، عصاره آناناس و تمرین هوازی-آناناس انجام شد. پس از القای تومور، برنامه تمرین را به مدت شش هفته انجام دادند و عصاره آناناس به میزان 300 mg/kg گاوژ شد. وزن و حجم تومور موش‌ها و بیان ژن HSP70 و CD147 بافت تومور به روش RT-PCR اندازه‌گیری شد و داده‌ها با استفاده آنالیز واریانس یک‌طرفه، آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی بنفرونی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی‌داری نیز $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: براساس نتایج در گروه تمرین هوازی و تمرین-آناناس کاهش معنی‌دار حجم تومور و کاهش بیان ژن HSP70 و CD147 بافت تومور مشاهده شد. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد تغییرات بیان ژن HSP70 بین گروه کنترل و گروه‌های تجربی تمرین هوازی، آناناس، تمرین-آناناس و بین گروه تمرین و عصاره و بین گروه عصاره و تعاملی معنی‌دار بود ($p < 0/0001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد تغییرات بیان ژن CD147 بین گروه کنترل و گروه‌های تجربی آناناس، تمرین-آناناس و بین گروه تمرین و تعاملی تمرین-آناناس معنی‌دار بود ($P < 0/0001$).

نتیجه‌گیری: تمرینات هوازی با شدت متوسط به همراه عصاره آناناس، با وجود تأثیرات مثبت از جمله کاهش وزن بدن و حجم تومور، با کاهش بیان ژن HSP70 و CD147 بافت تومور احتمالاً منجر به کند شدن روند پیشرفت بیماری ملانوما می‌گردد و به تنظیم عوامل رشد و ایمنی در سرطان ملانوما کمک می‌کند.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، آناناس، سرطان ملانوما، HSP70، CD147

1. گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

* نشانی الکترونیک نویسنده مسئول: abednatanzi@iau.ir

استناد: موثق، مریم، عابدنطنزی، حسین، غلامی، ماندانا، غزالیان، فرشاد. تأثیر شش هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بر بیان ژن HSP70 و CD147 بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما. سوخت و ساز و فعالیت ورزشی-1404؛ 15(2): 140-160

doi: 10.22124/jme.2025.31148.417

نوآوری پژوهش و پیام کلی

با بررسی پیشینه پژوهش حاضر با عنوان تأثیر تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بر حجم تومور و بیان ژن‌های HSP70 و CD147 در بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما این پژوهش اولین مطالعه‌ای می‌باشد که در بافت تومور با این مداخلات و متغییرها انجام شده است. امید است پس از انجام مطالعات انسانی و تایید و نتایج لازم با بهره‌گیری از نقش





آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آناس و ماده موثر برومیلین در کنار طراحی برنامه‌های ورزشی مناسب، بتوان در آینده به‌عنوان رویکردی اثر بخش در مدیریت سرطان و پیشگیری و درمان آن استفاده شود. به‌نظر می‌رسد تمرین هوازی و مصرف عصاره آناس بتواند به تنظیم عوامل رشد و ایمنی در سرطان ملانوما کمک کند.

مقدمه

ملانوما، ناشی از جهش‌های ژنی ملانوسیت‌ها، تهاجمی‌ترین سرطان پوست است (1). پاتوژنز ملانوم پیچیده است و عوامل ژنتیکی و محیطی را شامل می‌شود. افزایش بروز ملانوم در کشورهای توسعه یافته بیشتر به دلیل قرار گرفتن بیش از حد در معرض نور خورشید (نور ماوراء‌بنفش) است که عامل خطر اصلی برای ملانوم پوستی است (2). با وجود نتایج امیدوارکننده بالینی درمان‌های جدید، پیش‌آگهی ضعیف است و تا حدی به الگوهای فیزیکی ضایعه اولیه از جمله ضخامت، درگیری غدد لنفاوی و تمایل سلول‌های بدخیم به کلونیزه کردن بافت‌های دور بستگی دارد. تعامل سلول‌های ملانوما با سایر سلول‌های ساکن در ریزمحیط تومور به طور قابل توجهی بر بیولوژی تومور به عنوان تکثیر، تمایز و رشد تأثیر می‌گذارد (3). عملکرد جمعی چپرون‌های مولکولی نیز برای حفظ هموستاز سلولی که منجر به بقا می‌شود ضروری است (4). در سلول‌های انسانی، پروتئین شوک گرمایی **Hsp70** ناشی از استرس در سیتوزول بسیاری از تومورها بیان می‌شود که در آن انواع زیادی از عملکردهای چاپرون مانند تاخوردگی - باز شدن و انتقال پلی‌پپتیدها در غشاهای سلولی، شبیه‌سازی و جداسازی کمپلکس‌های پروتئینی و تنظیم فعالیت پروتئین را انجام می‌دهد. همچنین فرآیندهای ترمیم سلولی مرتبط با استرس را نیز انجام می‌دهد، مانند جلوگیری از تجمع پروتئین، تا زدن مجدد پروتئین‌های به‌اشتباه‌تابنده و حل شدن پروتئین‌های انباشته شده و با سیستم تخریب سلولی برای پاکسازی پروتئین‌های آسیب دیده همکاری می‌کند (5). علاوه بر این، تومورهای بسیار تهاجمی **Hsp70** را بر روی غشای پلاسمایی خود به‌عنوان یک نشانگر زیستی خاص تومور نشان می‌دهند (6). بیان بالای **Hsp70** با شروع، پیشرفت و بقای تومور در انواع مختلف سرطان مرتبط است (7). مطالعات مولکولی نشان می‌دهد که زیرواحدهای خانواده پروتئین **Hsp70**، ثبات پروتئین‌های کاندید متالوپروتئیناز ماتریکس خارج سلولی **CD147** را با افزایش تخریب یوبیکوئیتین-پروتئازوم کاهش می‌دهد که در نتیجه لاکتات و گلیکولیز را مهار می‌کند و در نهایت متاستاز و مهاجرت سلول‌های سرطانی را سرکوب می‌کند. این‌ها یافته‌ها نشان می‌دهد که خانواده پروتئین **Hsp70** سرکوبگر مهاجرت جدید سلول‌های سرطانی است (8). از سوی دیگر، تمایل سلول‌های ملانوما برای حمله به بافت‌های دور دست به تعامل آن‌ها با سلول‌های ریزمحیط تومور و کارایی پاسخ ایمنی بستگی دارد. ویژگی‌های نفوسیت‌های نفوذکننده تومور اطراف سلول‌های ملانوما بر پیش‌آگهی تأثیر می‌گذارند در حالی که محلی‌سازی، ترکیب و تراکم آن‌ها با بقا و کاهش خطر متاستاز ارتباط مثبت دارد (9). القاء کننده متالوپروتئیناز ماتریکس خارج سلولی **CD147** که با نام **Basigin** نیز شناخته می‌شود، یک پروتئین غشایی بسیار گلیکوزیله نوع I از خانواده بزرگ ایمونوگلوبولین‌ها است (10). یک مطالعه قبلی نشان داده است که **CD147** نقش کلیدی در آپوپتوز سلولی دارد. مهار بیان **CD147** باعث افزایش حساسیت شیمیایی سلول‌های سرطانی به‌ویژه یک رده سلولی مقاوم به چند دارو، با تنظیم کاهشی بیان ژن مهارکننده مرتبط با X آپوپتوز می‌شود (11).

با توجه جستجوی انجام شده تاکنون مشاهده شد که اثرات تمرین هوازی و عصاره آناس بر بیان ژن **HSP70** و **CD147** در بافت تومور سرطان ملانوما به طور مستقیم مورد مطالعه قرار نگرفته است. با این حال، تحقیقات مرتبط یافته‌هایی در مورد نقش این ژن‌ها در ملانوما ارائه می‌دهد (12 و 13). پروتئین **HSP70** در پاسخ‌های استرس



سلولی نقش دارد و نشان داده شده است که تولید ملانین را در سلول‌های ملانوما با تعامل با فاکتورهای رونویسی مانند **MITF** سرکوب می‌کند. بیان بیش از حد **HSP70** می‌تواند حساسیت سلول‌های ملانوما را به لنفوسیت‌های **T** سیتوتوکسیک افزایش دهد و به طور بالقوه بر بقای سلول‌های تومور تأثیر بگذارد (14). گلیکوپروتئین **CD147** در تومورهای مختلف از جمله ملانوم بسیار بیان می‌شود و در بقای سلول‌های تومور و آپوپتوز نقش دارد. کاهش **CD147** با افزایش آپوپتوز در سلول‌های ملانوما و تغییر مسیرهای سیگنالینگ مرتبط است (15). همچنین **CD147** از طریق متابولیسم گلیکولیتیک باعث رشد سلول‌های ملانوما می‌شود. در حالی که نشان داده شده است که ورزش هوازی باعث ایجاد تغییرات متابولیک مفید در زمینه‌های دیگر، مانند بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود، اثرات خاص بر **HSP70** و **CD147** در ملانوم ناشناخته باقی مانده است (15). تحقیقات بیشتری برای درک تأثیر ترکیبی تمرین هوازی و عصاره آناناس بر این ژن‌ها در ملانوم مورد نیاز است.

شواهد گسترده‌ای برای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در سرطان وجود دارد (16). ارزش پتانسیلی آنتی‌اکسیدان‌ها، محققان را بر آن داشته تا به جستجوی ترکیب‌های طبیعی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و سمیت کم بپردازند. مطالعات اخیر نشان داده که تعدادی از محصولات گیاهی شامل: پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، کورکومین‌ها، ترپن‌ها و انواع عصاره‌های گیاهی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند (17). همچنین نشان داده شده که یک سری از ترکیبات طبیعی از جمله گیاهان باعث القاء مسیرهای آپوپتوزی می‌شوند که در سلول‌های سرطان مهار شده‌اند. توانایی القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و توقف تکثیر این سلول‌ها موضوع بسیاری از تحقیقات ایمونوفارماکولوژی است (18). از جمله علل اصلی بروز سرطان‌ها می‌توان به تأثیر عوامل محیطی در ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی مسئول بروز بدخیمی‌ها اشاره کرد. فرآورده‌های طبیعی به‌ویژه گیاهان دارای پتانسیل بالایی برای ساخت ترکیبات دارویی هستند (19). آناناس با نام علمی **comosus ananas** و نام انگلیسی **pineapple** متعلق به خانواده برومولیاسه و زیرخانواده برومولوئیده است. این میوه یکی از پُرفرودارترین میوه‌های استوایی است. از نظر ترکیبات شیمیایی در هر صد گرم قسمت قابل مصرف میوه رسیده و خام به‌صورت متوسط: 85 گرم آب، 0/4 گرم پروتئین، 0/2 گرم چربی، 13 گرم مواد قندی، 17 میلی‌گرم کلسیم، 8 میلی‌گرم فسفر، 0/5 میلی‌گرم آهن، 1 میلی‌گرم سدیم، 146 میلی‌گرم پتاسیم، 0/09 میلی‌گرم تیامین، 0/03 میلی‌گرم ریبولوین، 0/02 میلی‌گرم نیاسین، آنزیم برومیلین، وانیلین، اسیدهای آزاد آلی، 17 میلی‌گرم ویتامین C، 70 واحد بین‌المللی ویتامین B₁ و B₂ وجود دارد. آنزیم برومیلین به‌دست آمده از عصاره آناناس به‌صورت گسترده در طب سنتی استفاده می‌شود. این ماده علاوه بر این موارد، دارای فعالیت‌هایی نظیر تنظیم‌کننده سیستم ایمنی، اثرات ضدالتهابی و اثرات ضدسرطانی است (20). رئیس و همکاران (2016)، اثرات ضدسرطانی آناناس را بر سرطان پستان بررسی نموده و به نتایج ارزشمندی در راستای نابودی این سلول‌ها دست یافتند (21). با توجه به قابلیت‌های برومیلین و تعداد اندک مطالعات انجام شده پیرامون سلول‌های سرطانی، هنوز مطالعات بیشتری لازم است تا بتوان قابلیت‌های این ترکیب را بررسی کرد. از اصلی‌ترین مشکلاتی که در درمان سرطان وجود دارد این است که داروهای درمانی در بافت‌های توموری باقی نمی‌مانند و داروهای بافت‌های سالم بدن را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند (22). امروزه روش‌های درمانی مختلفی همچون پرتودرمانی و داروهای شیمی‌درمانی رایج برای مقابله با سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ با این حال، این روش‌ها به دلیل سمیت بالا بر سلول‌های سالم، عوارض جانبی گسترده و هزینه‌های سنگین، همواره با محدودیت‌های جدی همراه هستند (23). از این‌رو، نیاز مبرمی به توسعه روش‌های نوین درمانی هدفمند سرطان احساس می‌شود؛ روش‌هایی که بتوانند ضمن کاهش عوارض جانبی، جایگزین مناسبی برای شیمی‌درمانی‌های مرسوم باشند. بر این اساس، هدف مطالعه حاضر



بررسی تأثیر تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بر بیان ژن‌های HSP70 و CD147 در بافت تومور سرطان ملانوما و همچنین حجم تومور در موش‌های مبتلا به این سرطان است. امید است که بهره‌گیری از نقش آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آناناس در کنار طراحی برنامه‌های ورزشی مناسب، بتواند در آینده به‌عنوان رویکردی مکمل در مدیریت سرطان به‌کار گرفته شود. نتایج این پژوهش می‌تواند زمینه‌ساز مطالعات انسانی مشابه گردد و در نهایت به کاهش عوارض بافتی ناشی از سرطان ملانوما و ارتقای کاربردهای علوم پزشکی و ورزشی در این حوزه کمک نماید.

روش‌شناسی

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش‌های نر C57BL/6 تشکیل دادند که از بین آن‌ها، 32 سر موش نر شش تا هشت هفته‌ای با دامنه وزنی 12 تا 14 گرم که با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد و در هنگام خرید در همین محدوده وزنی بودند به‌عنوان نمونه آماری از انستیتو پاستور خریداری و به اتاق نگهداری حیوانات آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله تهران منتقل شد. موش‌ها به‌صورت تصادفی و تعداد مساوی شامل هشت سر موش در هر گروه قرار گرفتند. میوه آناناس تهیه شده و پس از شسته شدن به حلقه‌های نازک برش زده شد و در مکان سایه روشن به دور از آلودگی خشک شد. سپس از میوه خشک شده، پودر یک‌نواخت تهیه می‌گردد. جهت عصاره‌گیری میوه آناناس از روش خیساندن در دمای 4 درجه سانتی‌گراد استفاده می‌شود. به ازای هر 7 گرم پودر آناناس، 50 میلی‌لیتر اتانول 85٪ استفاده شد و عصاره حاصله در بن‌ماری 37 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا حلال به‌طور کامل تبخیر شود. عصاره خشک به‌دست آمده تا زمان استفاده، درون یخچال نگهداری شد (20). به‌طور خلاصه پس از توزین میوه آناناس، پوست آن جدا، پارانشیم آن خارج شده و با استفاده از دستگاه مخلوط‌کن، مخلوط یکنواخت و همگنی تهیه شده، پس از سانتریفوژ مخلوط با سرعت 4000 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه، فیبره در قسمت پایینی و عصاره در قسمت بالایی لوله قرار می‌گیرد. این عصاره با آب مقطر رقیق شده و عصاره 20 درصد مورد استفاده قرار گرفت. نرمال سالین و عصاره آناناس (300 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به‌وسیله گاواژ به موش‌های مورد نظر خوراندند (20).

رده سلول سرطانی ملانوما B16F10 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد. برای کشت این رده سلولی، از محیط کشت RPMI غنی شده با 10٪ FBS همراه با آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین استرپتومایسین استفاده شد. در ابتدا به منظور استخراج بافت توموری از موش‌های استوک، با روش نخاعی موش‌ها کشته شدند. سپس ناحیه توموری با الکل استریل شد و با کمک پنس و قیچی تومور از پهلو موش خارج و به یک پلیت حاوی محلول سرم فیزیولوژی استریل منتقل گردید. بافت توموری حاصله با یک تیغ بیستوری به قطعات 2-3 میلی‌متری تقسیم شد. در حین قطعه کردن بافت توموری چربی‌ها و عروق اضافه از تومور جداسازی شده و بافت توموری خالص قطعه‌قطعه شد. قطعات توموری به یک پلیت استریل حاوی سرم فیزیولوژی منتقل شدند تا برای جراحی مورد استفاده قرار بگیرند. برای شروع جراحی ابتدا موش‌ها با مخلوط داروی زایلزین و کتامین به نسبت 1 به 2 همراه با محلول سرم فیزیولوژی استریل مورد بیهوشی قرار گرفتند (مقدار داروها برای بیهوشی 5 سر موش شامل 40 میکرولیتر زایلزین و 80 میکرولیتر کتامین همراه با 380 میکرولیتر سرم فیزیولوژی استریل بود که از این ترکیب مقدار 100 میکرولیتر به هر موش به‌صورت صفاقی تزریق شد). پس از بیهوشی کامل موش‌های مورد مطالعه، موش‌ها از ناحیه پهلو بر روی تخته جراحی قرار گرفتند و با کمک پنس و قیچی استریل در ناحیه پهلو شیو شده یک برش کوچک ایجاد شد سپس با



کمک پنس کانال باریکی در زیر پوست ایجاد شد. در مرحله بعدی یه قطعه از بافت توموری استخراج شده از موش استوک به انتهای کانال ایجاد شده در زیر پوست موش منتقل شد و محل برش پوست به کمک چسب و منگنه مخصوص بخیه مسدود شد. پس از جراحی به منظور ریکاوری، موش‌ها در یک قفس جداگانه و در یک اتاق با دمای 25 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. محل بخیه جراحی با بتادین ضدعفونی گردید. همچنین موش‌ها به صورت هفتگی جهت بررسی روند رشد تومور مورد معاینه قرار می‌گرفتند (24). نگهداری موش‌ها در قفس‌های پلی‌کربنات مخصوص و تعداد چهار سر موش در هر قفس صورت گرفت. به منظور آشنایی با محیط جدید، موش‌ها به مدت یک هفته در آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از آشناسازی، موش‌ها به صورت تصادفی و با توجه به همگن‌سازی وزن به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. پس از یک هفته آشناسازی با محیط، سلول‌های سرطانی به موش‌ها تزریق و یک هفته پس از تزریق سلول‌های سرطانی و بعد از اینکه بافت تومور در جایگاه تزریق سلول‌های سرطانی قابل لمس و مشاهده بود، پروتکل پژوهشی آغاز شد و در انتهای شش هفته برنامه تمرینی، خون‌گیری، بافت‌برداری و اندازه‌گیری وزن موش و حجم تومور انجام گرفت. همه حیوانات در ابتدا و به صورت هفتگی با استفاده از ترازو وزن شدند. حجم تومور در دو بُعد اندازه‌گیری شد. بزرگترین بُعد تومور به عنوان طول تومور در نظر گرفته شد و بُعد دیگر (در زاویه 90 درجه) به عنوان عرض در نظر گرفته شد. پس از پیدایش تومور، هر هفته یک‌بار طول و عرض تومور توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری گردید و با استفاده از فرمول محاسباتی حجم تومور میزان آن تعیین شد $(V=\pi/6 (w \times L^2))$ (25).

برنامه تمرین هوازی:

پروتکل تمرینی: برنامه تمرین هوازی در پژوهش حاضر، شامل شش هفته دویدن روی نوارگردان بود که به سه قسمت دو هفته‌ای تقسیم می‌شد. دو هفته اول مرحله آشناسازی با نوارگردان بود که موش‌ها با سرعت 6 تا 8 متر بر دقیقه که به تدریج افزایش می‌یافت به مدت دو هفته هر هفته 5 روز و هر روز یک جلسه برای 20 دقیقه تمرین می‌کردند. در ادامه دو هفته بعد با افزایش توانایی موش‌ها برنامه تمرین تداومی ابتدا با سرعت 10 متر در دقیقه (69٪ VO_2max) و سپس با 12 متر در دقیقه (73٪ VO_2max) برای مدت 25 دقیقه در هر جلسه انجام شد و در نهایت در دو هفته آخر سرعت به 14 متر در دقیقه (77٪ VO_2max) و سپس به 16 متر در دقیقه (81٪ VO_2max) رسید و هر جلسه 30 دقیقه موش‌ها تمرین می‌کردند. برنامه تمرین تداومی به صورت کامل در جدول 1 نشان داده شده است. به منظور از بین بردن تأثیر استرس نوارگردان بر متغیرهای مورد بررسی، موش‌های گروه کنترل نیز به اندازه مدت زمان برنامه تمرین ورزشی (بین 20 تا 30 دقیقه) روی نوارگردان خاموش قرار داده می‌شدند (26).

جدول 1. برنامه تمرین هوازی شش هفته‌ای

دوره تمرین	متغیرهای تمرین	
	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)
هفته اول و دوم (آشناسازی)	6-8	20
هفته سوم و چهارم	10-12	25
هفته پنجم و ششم	14-16	30

روش بیان ژن نسبی HSP70 و CD147 بافت تومور :

بافت تومور نیز به منظور اندازه گیری بیان ژن جدا و بلافاصله توسط ازت مایع به فریزر منفی 80 منتقل شد. مقداری از بافت تومور برای انجام مراحل ریل تایم درون RNA later قرار داده شد و سپس در فریزر منفی 20 درجه سانتی گراد قرار داده شد. در مرحله بعد RNA با استفاده از کیت RiboEx Total RNA isolation solution (GeneAll) استخراج شد و در نهایت بررسی کمی و کیفی آن با استفاده از دستگاه نانودارپ و ژل آگارز یک درصد انجام شد. پس از اطمینان از خلوص و کیفیت RNA استخراج شده، cDNA با استفاده از کیت FIRE Script RT cDNA Synthesis (Solis BioDyne) ساخته شد و به فریزر منفی 20 درجه سانتی گراد انتقال داده شد. سپس برای بررسی بیان ژن HSP70 و CD147 بافت تومور، پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش توسط نرم افزار Primer3 طراحی شد و توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول 2 آورده شده است.

جدول 2. الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

	Gene	sequence	Product length	Accession number
1	Homo sapiens basic leucine zipper and W2 domains 1 (BZW1)	Forward: AACAGATGTCCCGTGGTGAT Reverse: TTCCGATGACAACCTGGCTCT	96 nt	NM_001207069.2
2	Mus musculus heat shock protein 1A (Hspa1a) HSP 70	Forward: TGAGCAAGGAGGAGATCGAG Reverse: CTTCTTCTTGTCAGCCTCGC	179 nt	NM_010479.2
3	Mus musculus basigin (Bsg) CD147	Forward: GCACCATCCAAACCTCTGTC Reverse: GTGTCTCTGCAGTACCTT	127 nt	NM_009768.2

بیان ژن HSP70 و CD147 بافت تومور در حجم 20 میکرولیتر صورت گرفت به این ترتیب که 10 میکرولیتر (Master Mix (AMPLIQON RealQ Plus 2x Master Mix Green) در ویال ریخته شد و سپس 2 میکرولیتر پرایمر که شامل 1 میکرولیتر پرایمر پیشرو و 1 میکرولیتر پرایمر پیرو بود به ویال اضافه شد. در ادامه 2 میکرولیتر از cDNA ساخته شده به ویال اضافه گردید و در نهایت به آن 6 میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد تا حجم مواد به 20 میکرولیتر برسد. سپس نمونه‌ها در دستگاه (Rotor-Gene Q real-time PCR cycler (QIAGEN) Enzyme Activation به مدت 15 دقیقه در دمای 95 درجه سانتی گراد و 40 سیکل شامل Denaturation به مدت 10 ثانیه در دمای 94 درجه سانتی گراد، Annealing-



Extention به مدت 30 ثانیه بر روی تنظیم و اجرا شد. در نهایت محصولات PCR به منظور بررسی اختصاصیت بر روی ژل آگاروز 1 درصد بررسی شد (جدول 3).

جدول 3. مراحل دمایی ریل تایم بیان ژن HSP70 و CD147 بافت تومور

سیکل	دما	زمان	مراحل
1	95	15 دقیقه	Enzyme Activation
	94	10 ثانیه	Denaturation
40	60	30 ثانیه	Extension-Annealing

تجزیه و تحلیل آماری

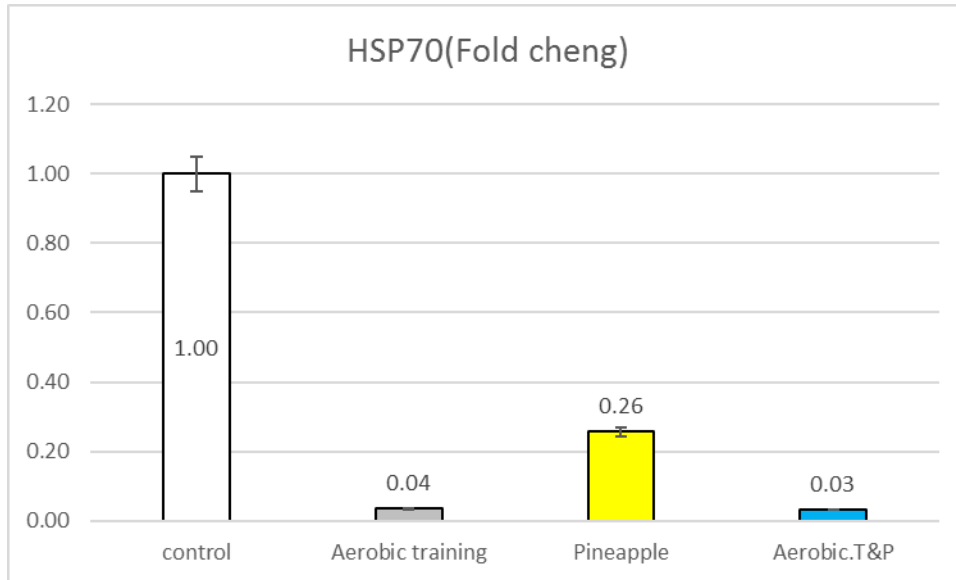
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 22 تجزیه و تحلیل شدند. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. جهت مقایسه تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی بن فرونی و جهت مقایسه میزان تأثیر هر یک از متغیرهای مستقل از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و شاخص تعیین اندازه اثر استفاده شد. سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطوح متغیرهای مورد بررسی شامل وزن موش‌ها، حجم تومور، بیان ژن HSP70 و CD147 بافت تومور، موش‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار در جدول 4 گزارش شده است. نمودارهای 1 و 2 و 3 تغییرات بیان ژن HSP70 و CD147 بافت تومور و تغییرات حجم تومور موش‌های گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

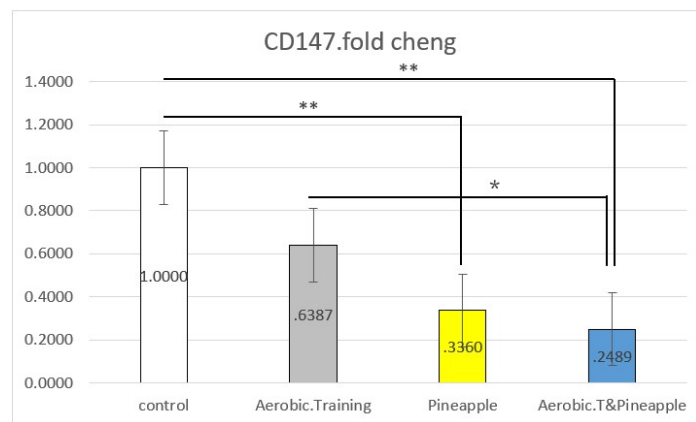
جدول 4- جدول توصیفی سطوح متغیرهای مورد بررسی در گروه‌های پژوهش (انحراف معیار \pm میانگین)

گروه	وزن موش‌ها (گرم)	حجم (میلی متر مکعب)	تومور	HSP70 (Fold cheng)	CD147 (Fold cheng)
کنترل	8/15 \pm 1/09	3799/81 \pm 882/44	1 \pm 0	1 \pm 0	1 \pm 0
تمرین هوازی	15 \pm 1/87	2804/71 \pm 799/79	0.63 \pm 0.22	0.035 \pm 0.002	0.63 \pm 0.22
آناناس	14/5 \pm 1/29	2694/64 \pm 739/22	0.33 \pm 0.25	0.25 \pm 0.07	0.33 \pm 0.25
تمرین - آناناس	14/8 \pm 1/48	1093/38 \pm 774/13	0.24 \pm 0.21	0.031 \pm 0.026	0.24 \pm 0.21



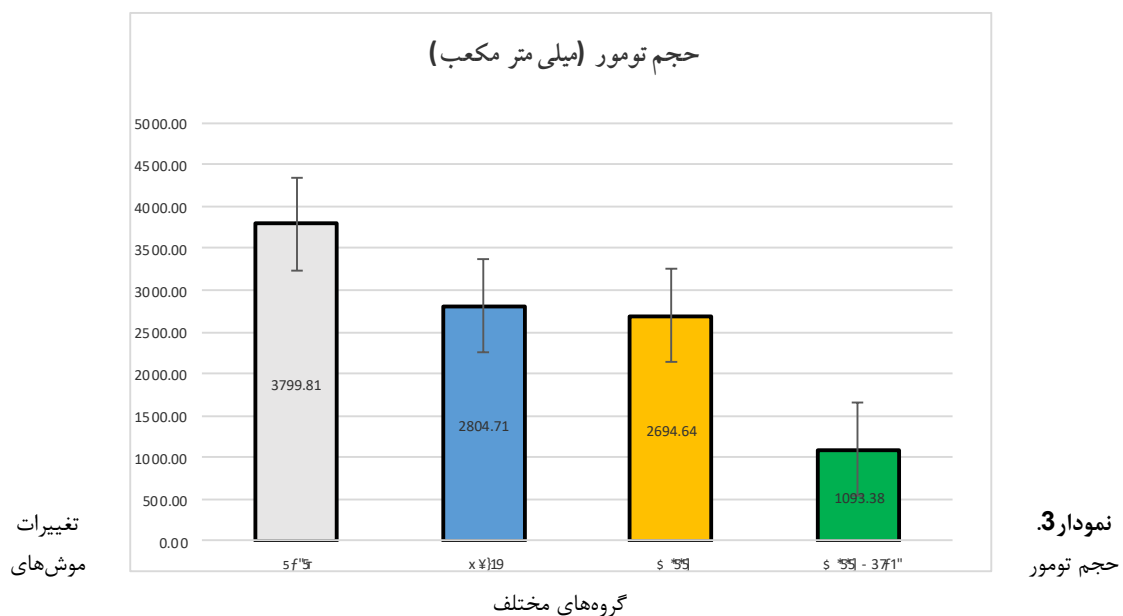
نمودار 1. تغییرات بیان ژن HSP70 بافت تومور موش‌های گروه‌های مختلف

همانطور که اطلاعات نمودار نشان می‌دهد بیان ژن HSP70 در گروه‌های تجربی کاهش داشته است. نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه بین گروه‌ها (جدول 5) نشان داد که تغییرات بیان ژن HSP70 بین گروه‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.01$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد تغییرات بیان ژن HSP70 بین گروه کنترل و گروه‌های تمرین هوازی، آناناس، تمرین-آناناس و بین گروه تمرین و عصاره و بین گروه عصاره و تعاملی معنی‌دار بود ($P < 0.01$). بررسی تغییرات تفاضل میانگین‌ها نیز نشان داد تغییرات بیان ژن HSP70 بین گروه کنترل و تمرین هوازی و کنترل و عصاره-تمرین از بقیه بیشتر است.



نمودار 2. تغییرات بیان ژن CD147 بافت تومور موش‌های گروه‌های مختلف ($P < 0.01^{**}, P < 0.05^{*}$)

همانطور که اطلاعات نمودار نشان می‌دهد بیان ژن CD147 در گروه‌های تجربی تمرین هوازی و عصاره و تعاملی کاهش داشته است. نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه بین گروه‌ها (جدول 5) معنی‌داری بین گروه‌ها را نشان می‌دهد. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد تغییرات بیان ژن CD147 بین گروه کنترل و گروه‌های تجربی آناناس، تمرین-آناناس و بین گروه تمرین و تعاملی تمرین-آناناس معنی دار بود ($P < 0.0001$). بررسی تغییرات تفاضل میانگین‌ها نیز نشان داد تغییرات بیان ژن CD147 بین گروه کنترل و تمرین-آناناس بیشتر بود.



همانطور که نمودار 3 نشان می‌دهد میزان حجم تومور نسبت به گروه کنترل در گروه‌های تجربی کاهش داشته که در گروه آناناس و تمرین-آناناس ($P < 0.01$) میزان کاهش بیشتر است. جدول 5 نتایج آزمون تحلیل واریانس گروه‌ها را نشان می‌دهد. همان‌طور که از نتایج آزمون تحلیل واریانس مشخص است در متغیرهای مختلف بین گروه‌ها تفاوت وجود دارد.

جدول 5. نتایج آزمون تحلیل واریانس گروه‌ها

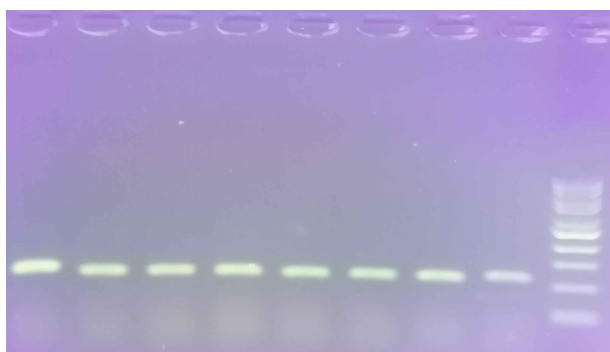
متغیر	F	سطح معنی‌داری
HSP70	791/42	0/001
CD147	14/59	0/001
حجم تومور	8/54	0/002

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تغییرات بیان ژن HSP70 بین گروه‌ها معنی‌دار است و در گروه‌های تجربی کاهش بیان ژن مشاهده می‌شود ($P < 0.01$) و بررسی تغییرات تفاضل میانگین گروه‌ها نیز نشان می‌دهد که میانگین گروه‌های تجربی کمتر است و تفاضل میانگین گروه هوازی (0.964) و تمرین - آناناس (0.968) و گروه کنترل نسبت به آناناس (0.743) به تنهایی بیشتر است. همچنین نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تغییرات بیان

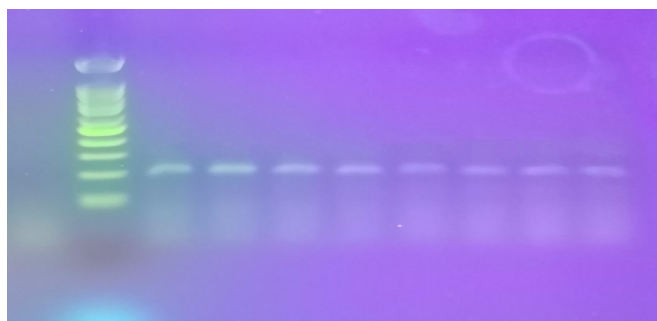
ژن CD147 بین گروه‌ها معنی‌دار است و بررسی تغییرات تفاضل میانگین گروه‌ها نیز نشان می‌دهد که میانگین گروه‌های تجربی کمتر است و در گروه‌های تجربی کاهش بیان ژن مشاهده می‌شود و تفاضل میانگین گروه تمرین - آناناس و گروه کنترل نسبت به تمرین هوازی و آناناس به تنهایی بیشتر است. همانطور نتایج نشان داد میزان حجم تومور نسبت به گروه کنترل در گروه‌های تجربی کاهش داشته که در گروه آناناس و تمرین - آناناس میزان کاهش بیشتر است ($P < 0.01$). نتایج آزمون تعقیبی نیز نشان داد تغییرات حجم تومور در پایان دوره بین گروه تمرین - آناناس و کنترل نسبت به گروه‌های دیگر کاهش بیشتری نشان می‌دهد که معنی‌دار است و در بقیه گروه‌ها نیز نسبت به کنترل کاهش غیر معنی‌دار مشاهده می‌شود.

توصیف نمونه: آنالیز ژل الکتروفورز

بعد از واکنش Real-Time PCR محصولات واکنش هر ژن با ژل الکتروفورز آنالیز شد. نتایج حاصل، تکثیر اختصاصی قطعات مورد نظر را تأیید نمود (تصاویر 1 و 2).

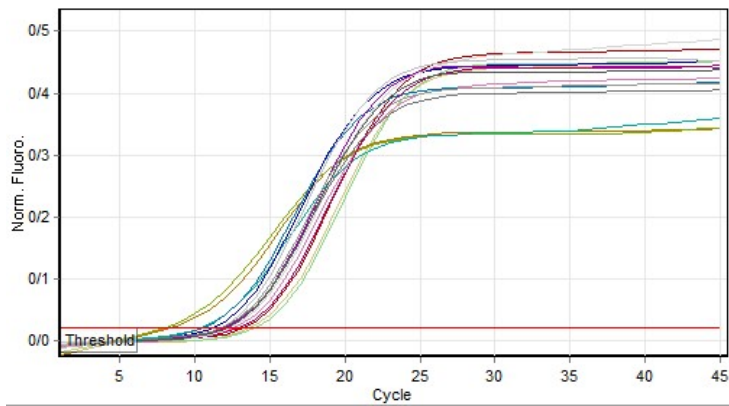


تصویر 1. الکتروفورز محصولات تکثیر ژن‌های CD147: 127 bp روی ژل آگارز 1/5 درصد.

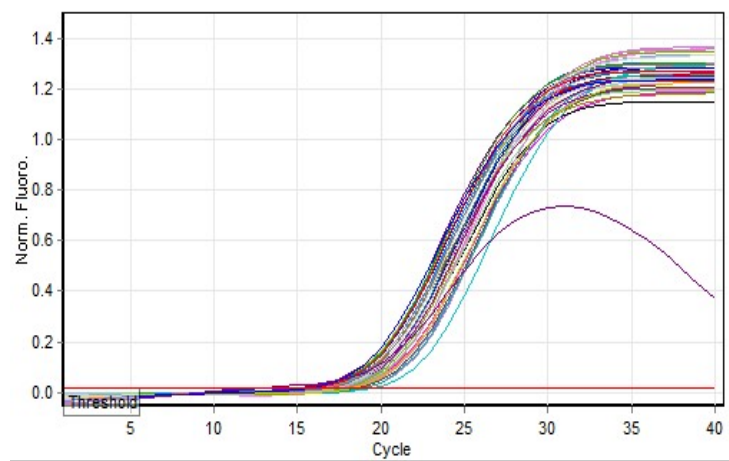


تصویر 2. الکتروفورز محصولات تکثیر ژن‌های HSP70: 117 bp روی ژل آگارز 1/5 درصد

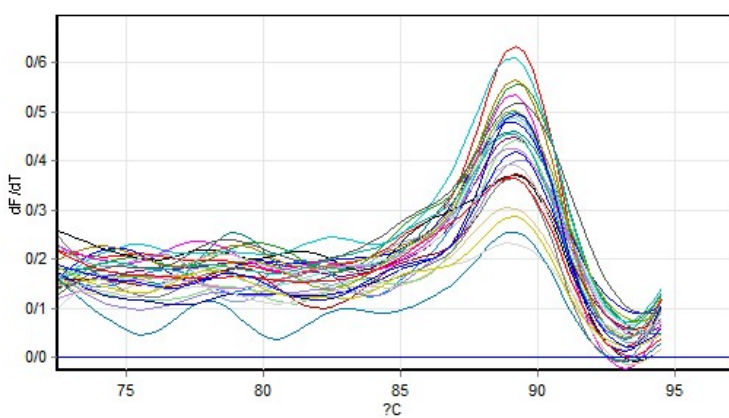
منحنی استاندارد بیان هر یک از ژن‌ها در زیر نشان داده شده است (تصاویر 3 تا 5):



تصویر 3. منحنی استاندارد بیان ژن مرجع در بافت تومور



تصویر 4. منحنی استاندارد بیان ژن HSP70 در بافت تومور



تصویر 5. منحنی استاندارد بیان ژن CD147 در بافت تومور



جدول 6. نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی بنفرونی و نیز اندازه اثر گروه‌ها را نشان می‌دهد

Effect.Size	Sig.	F	عامل	متغییر/شاخص آماری
0/86	0/005	10/82	هوازی	
0/96	0/003	12/73	آناناس	حجم تومور (میلی‌متر مکعب)
0/11	0/454	0/59	هوازی+ آناناس	
0/988	0/059	1283/074	هوازی	
0/967	0/091	441/03	آناناس	بیان ژن HSP70 (Fold cheng)
0/972	0/175	513/73	هوازی + آناناس	
0/291	0/02	6/15	هوازی	
0/694	0/001	33/98	آناناس	بیان ژن CD147 (Fold cheng)
0/133	0/15	2/30	هوازی + آناناس	

نتایج آزمون دو عاملی و شاخص اندازه اثر نیز نشان می‌دهد در حجم تومور بین گروه‌های تجربی تمرین هوازی و عصاره آناناس و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد و شاخص اندازه اثر آنها بالاست. همانطور که اطلاعات جدول 6 از نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی نیز نشان می‌دهد کاهش حجم تومور در گروه‌های تجربی در گروه آناناس و تعاملی تمرین - آناناس معنی‌دار و در گروه تمرین کاهش غیر معنی‌داری در حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما ایجاد شد ولی تمرین - عصاره آناناس حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما را بیشتر کاهش داد که شاخص اندازه اثر عصاره آناناس بیشتر بود. همانطور که اطلاعات جدول 6 از نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی نشان می‌دهد بیان ژن HSP70 در گروه‌ها در عامل تمرین هوازی معنی‌دار بوده و شاخص اندازه اثر سه عامل تمرین هوازی و آناناس و تمرین - آناناس در کاهش بیان ژن در بافت تومور بالا بوده و در مورد بیان ژن CD147 عامل تمرین هوازی و عصاره آناناس اثر بخشی معنی‌داری در کاهش این ژن در بافت تومور داشته است که شاخص اندازه اثر عصاره آناناس در کاهش این ژن در بافت تومور بالاتر بوده است.

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی و عصاره آناناس منجر به کاهش وزن و کاهش معنی‌دار حجم تومور شده همانطور نتایج نشان داد میزان حجم تومور نسبت به گروه کنترل در گروه‌های تجربی کاهش داشته که در گروه آناناس و تمرین - آناناس میزان کاهش بیشتر است. نتایج آزمون تعقیبی نیز نشان داد تغییرات حجم تومور در پایان دوره بین گروه تمرین - آناناس و کنترل نسبت به گروه‌های دیگر کاهش بیشتری نشان می‌دهد که معنی‌دار است و در بقیه گروه‌ها نیز نسبت به کنترل کاهش غیر معنی‌دار مشاهده می‌شود. تغییرات بیان ژن HSP70 بین گروه‌ها معنی‌دار است و در گروه‌های تجربی کاهش مشاهده می‌شود و بررسی تغییرات تفاضل میانگین گروه‌ها نیز نشان می‌-



دهد که میانگین گروه‌های تجربی کمتر است و تفاضل میانگین گروه تمرین - آناناس و گروه کنترل و نیز تمرین و کنترل نسبت به آناناس به تنهایی بیشتر است. بنابراین بیان ژن HSP70 در گروه‌های تجربی تمرین هوازی و تمرین - آناناس به طور معنی‌داری کاهش نشان می‌دهد. همچنین تغییرات بیان ژن CD147 بافت تومور در گروه‌های تجربی تعاملی تمرین - آناناس و آناناس و تمرین هوازی به ترتیب نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری داشت و نشان داده شد. تغییرات بیان ژن CD147 بین گروه‌ها معنی‌دار و تغییرات تفاضل میانگین گروه‌ها نیز نشان می‌دهد که میانگین گروه‌های تجربی تعاملی تمرین - آناناس کمتر از بقیه گروه‌های تجربی هست و کاهش بیشتری مشاهده می‌شود و تفاضل میانگین گروه تمرین - آناناس و گروه کنترل نسبت به تمرین هوازی و آناناس به تنهایی بیشتر است.

امانی و همکاران (2017) تأثیر تمرین‌های ورزشی بر سطوح عوامل التهابی در موش‌های توموری را مطالعه کردند و بیان کردند شش هفته تمرین استقامتی روی نوارگردان منجر به کاهش معنادار سطوح IL-6 و VEGF در بافت تومور موش‌های حامل تومور پستان شد (26). باکورا¹ و همکاران (2007) در رابطه با اثرگذاری مثبت تمرین‌های با شدت بالا در کاهش حجم تومور نشان دادند که 10 هفته تمرین شدید روی نوارگردان (پنج جلسه در هفته، 30 دقیقه، 85 درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) منجر به کاهش معنی‌دار حجم تومور در رت‌های حامل تومور می‌شود. علاوه بر این، تمرین‌های ورزشی با افزایش معنی‌دار بقا در مقایسه با گروه کنترل تومور همراه بود. این نتایج نشان می‌دهد که انواع مختلف تمرین‌های ورزشی می‌تواند نقش مؤثری در سرکوب رشد تومور داشته باشد (27). یافته‌های پژوهش حاضر موافق با یافته‌های مورفی² (2011) بود و در هر دو پژوهش کاهش حجم تومور بعد از یک دوره تمرین استقامتی مشاهده شد. پژوهش حاضر نشان داد وزن موش‌ها در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل کاهش یافت که در گروه تمرین - آناناس میزان کاهش وزن بیشتر بود و نیز حجم تومور در گروه‌های تجربی کاهش داشته که در گروه آناناس و تعاملی تمرین - آناناس معنی‌دار و در گروه تمرین کاهش غیرمعنی‌داری در حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما ایجاد شد ولی تمرین - عصاره آناناس حجم تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما را بیشتر کاهش داد که شاخص اندازه اثر عصاره آناناس بیشتر بود و تغییرات حجم تومور در بین گروه تمرین - آناناس و کنترل نسبت به گروه‌های دیگر کاهش بیشتری نشان داد که معنی‌دار بود ولی در بقیه گروه‌ها نیز نسبت به کنترل کاهش غیر معنی‌دار مشاهده شد و احتمالاً اگر طول مدت تمرین در پژوهش حاضر با مداخلات تغذیه‌ای همراه ادامه می‌یافت کاهش حجم تومور در گروه تمرین نیز شاید معنی‌دار می‌شد اما در گروه آناناس کاهش معنی‌دار بوده و تأثیر بیشتری بر حجم تومور داشته که تأثیر خود را در گروه تعاملی تمرین - آناناس نشان داده و حجم تومور را نسبت به تمرین بیشتر کاهش داده است. همه این یافته‌ها بر اثرات ضدالتهابی تمرین‌های ورزشی در موش‌های مبتلا به سرطان تأکید دارد که می‌تواند به کاهش معنادار حجم تومور نیز منجر شود. مورفی و همکاران (2011) کاهش معنی‌دار حجم تومور را به دنبال تمرین‌های هوازی در موش‌های سرطانی به افت عوامل التهابی نسبت دادند و بیان داشتند این کاهش التهاب، احتمالاً می‌تواند در اثر کاهش رهایش سایتوکاین‌ها از قبیل IL-6 در پاسخ به انقباض عضلانی منظم باشد (28). البته تومور مورد بررسی در پژوهش حاضر متفاوت از پژوهش‌های فوق بود و مدت زمان دوره تمرین در پژوهش حاضر (شش

¹ Bacurau

² Murphy



هفته) به خاطر نوع سرطان و رده سلولی آن که بسیار تهاجمی بود و با توجه به رشد تومور امکان ادامه کار وجود نداشت که نشان می‌دهد حتی دوره کوتاه مدت تمرین ورزشی نیز می‌تواند منجر به کند شدن روند رشد تومور شود. در مورد تغییرات بیان ژن‌های HSP70 و CD147 بافت تومور یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد شش هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن HSP70 و CD147 موش‌های C57 مبتلا به سرطان ملانوما شد. پروتئین HSP70 در پاسخ‌های استرس سلولی نقش دارد و نشان داده شده است که تولید ملانین را در سلول‌های ملانوما با تعامل با فاکتورهای رونویسی مانند MITF سرکوب می‌کند. بیان بیش از حد HSP70 می‌تواند حساسیت سلول‌های ملانوما را به لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک افزایش دهد و به طور بالقوه بر بقای سلول‌های تومور تأثیر بگذارد. گلیکوپروتئین CD147 نیز در تومورهای مختلف از جمله ملانوم بسیار بیان می‌شود و در بقای سلول‌های تومور و آپوپتوز نقش دارد. کاهش CD147 با افزایش آپوپتوز در سلول‌های ملانوما و تغییر مسیرهای سیگنالینگ مرتبط است. همچنین CD147 از طریق متابولیسم گلیکولیتیک باعث رشد سلول‌های ملانوما می‌شود (15). گلیکوپروتئین CD147 با واسطه آپوپتوز از طریق مسیرهای سیگنالینگ IGF2R و PTEN/PI3K/AKT نقش مهمی در ملانوم ایفا می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که کاهش CD147 منجر به افزایش آپوپتوز در سلول‌های ملانوما می‌شود که نقش حیاتی آن را در بقای سلول‌های تومور نشان می‌دهد. به طور خاص، ناک‌داون CD147 منجر به کاهش بیان IGF2R می‌شود، که هدف پایین دستی در مسیر PTEN/PI3K/AKT است، در نتیجه بر بقای سلولی و آپوپتوز تأثیر می‌گذارد (25). علاوه بر این، CD147 اغلب در بافت‌های ملانوما بالینی بیش از حد بیان می‌شود، که با تهاجم تومور و پیش‌آگهی ضعیف مرتبط است (26). این بیان بیش از حد با افزایش تهاجم و متاستاز سلول‌های تومور، عمدتاً از طریق القای متالوپروتئینازهای ماتریکس (MMPs) در فیبروبلاست‌های اطراف همراه است. بنابراین، هدف قرار دادن CD147 ممکن است با مختل کردن نقش آن در ارتقاء بقا و تهاجم سلولی، یک استراتژی درمانی برای درمان ملانوما ارائه دهد. گلیکوپروتئین CD147 به رشد سلول‌های ملانوما از طریق تنظیم مثبت گلیکولیز با واسطه SOX کمک می‌کند، بنابراین یک راه درمانی برای مدیریت ملانوما فراهم می‌کند (29).

در حالی که نشان داده شده است که ورزش هوازی باعث ایجاد تغییرات متابولیک مفید در زمینه‌های دیگر، مانند بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود، اثرات خاص بر HSP70 و CD147 در ملانوم ناشناخته باقی مانده است. تحقیقات بیشتری برای درک تأثیر ترکیبی تمرین هوازی و عصاره آناناس بر این ژن‌ها در ملانوم مورد نیاز است (20). همچنین پژوهش حاضر نشان داد که مصرف هیدرو الکلی عصاره آناناس منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن بافت تومور HSP70 و کاهش معنی‌دار بیان ژن CD147 بافت تومور موش‌های C57 مبتلا به سرطان ملانوما شد. آنزیم برومیلین به‌دست آمده از عصاره آناناس به‌صورت گسترده در طب سنتی استفاده می‌شود این ماده علاوه بر این موارد، دارای فعالیت‌هایی نظیر تنظیم‌کننده سیستم ایمنی، اثرات ضد التهابی و اثرات ضد سرطانی است عصاره آناناس ممکن است فعالیت‌های ضد سرطانی بیولوژیکی را از طریق مکانیسم‌های مختلف از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد جهش‌زایی، القا یا مهار فرآیندهای کلیدی در متابولیسم سلولی و توانایی فعال کردن مسیرهای آپوپتوز اعمال کند. اکثر داروهای ضد سرطان آپوپتوز را به عنوان یک مکانیسم اولیه برای مهار تکثیر سلولی القا می‌کنند. عصاره آناناس حاوی



مولکول‌های فعال زیستی متنوع است که به دلیل ترکیبات زیست فعالی که رشد تومور را مهار کرده و مسیر آپوپتوز را القا می‌کنند و قادر به درمان سرطان می‌باشد. محتمل‌ترین توضیح برای اثر ضد سرطانی قابل توجه عصاره آناناس محتوای برومیلین و فلاونوئیدها و سایر مولکول‌های شناخته شده و یا مواد ناشناخته نشده آن هستند که از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، القای آپوپتوز، مهار رشد سلولی و مهاجرت سلولی قادر به القای ضد سرطان هستند. با این حال، اثرات مشاهده شده می‌تواند توسط چندین مولکول و احتمالاً مولکول‌هایی ایجاد شود که هنوز شناسایی نشده اند (20). تحقیقات نشان می‌دهد که برومولین می‌تواند ژن‌های مرتبط با تکثیر سلول‌های سرطانی را کاهش دهد و مسیرهای آپوپتوز را ارتقا دهد (30). در برخی موارد، برومولین در صورت ترکیب با عوامل شیمی درمانی استاندارد، اثرات هم‌افزایی نشان داده و اثربخشی آنها را افزایش می‌دهد. در حالی که برومولین قبلاً به عنوان یک مکمل در شیمی درمانی استفاده می‌شود، پتانسیل آن به عنوان یک درمان مستقل در حال بررسی است. این دارو در مطالعات پیش‌بالینی امیدوارکننده بوده است، اما برای اثبات اثربخشی و ایمنی آن در مقایسه با داروهای ضد سرطان شناخته شده، آزمایش‌های بالینی بیشتری مورد نیاز است. به طور کلی، برومولین مشخصات منحصر به فردی را به عنوان یک عامل ضد سرطان، با مکانیسم‌ها و اثراتی که نیاز به بررسی بیشتر در کنار درمان‌های سنتی دارد، ارائه می‌دهد (31).

در مجموع، یافته‌ها نشان داد که تمرین هوازی همراه با مصرف هیدرو الکلی آناناس به طور معنی‌داری منجر به کاهش بیشتر بیان ژن پروتئین شوک حرارتی 70 و القاء کننده متالوپروتئیناز ماتریکس خارج سلولی در موش‌های C57 مبتلا به سرطان ملانوما شد. بنابراین ممکن است تمرینات هوازی در ترکیب با مصرف هیدرو الکلی آناناس منجر به تنظیم موثرتر عوامل ایمنی در سرطان ملانوما شود ولی اظهار نظر قطعی نیازمند پژوهش بیشتر در این زمینه می‌باشد. نقطه قوت اصلی مطالعه حاضر، مقایسه اثربخشی چندین مداخله برای شناسایی بهترین مداخله است. رویکرد فعلی در نتیجه منجر به تصمیم‌گیری‌های آگاهانه تر می‌شود. محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می‌توان به تعداد کم نمونه‌ها در تحقیق حاضر اشاره کرد لذا مطالعه‌ای مشابه با اندازه‌گیری این شاخص‌های در تعداد نمونه‌های بالا پیشنهاد می‌شود. همچنین پیشنهاد می‌شود که تحقیقی مشابه با اندازه‌گیری عوامل رشد ایمنی متعاقب پروتکل‌های تمرینی دیگر انجام شود.

نتیجه‌گیری کلی و پیام مقاله

از آنجا که تمرین ورزشی برای موش‌های بیمار سرطانی شده می‌تواند استرس‌زا و التهاب‌زا باشد، لذا استفاده از عصاره‌های طبیعی حاوی مواد آنتی‌اکسیدانی مانند آناناس که حاوی ماده مؤثره برومولین و ... است با خواص آنتی‌اکسیدانی خود و احتمالاً کنترل و مهار عوامل التهابی، می‌تواند استرس و التهاب ناشی از تمرین توسط موش‌های بیمار را کمتر کند و استفاده و تیمار موش‌ها با تمرین و عصاره آناناس به نتایج موثرتر و مفیدتری در کاهش حجم تومور و کنترل بیماری که در مطالعه حاضر نیز ملاحظه شد، منجر شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی، عصاره آناناس و تعامل تمرین - آناناس با کاهش معنی‌دار بیان ژن HSP70 و کاهش معنی‌دار CD147 بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما شد. بنابراین، به نظر می‌رسد تمرین هوازی و مصرف عصاره آناناس بتواند به



تنظیم عوامل رشد و ایمنی در سرطان ملانوما کمک کند. از آنجا که ترکیبات گیاهی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی عوارض جانبی کمتری دارند لذا شناسایی راهبردهای جدید برای استفاده از گیاهان دارویی به عنوان جایگزین مناسبی به جای داروهای شیمیایی در کنار فعالیت ورزشی مناسب می‌تواند کمک شایانی به بهبود بیماران سرطانی ملانوما کند.

محدودیت‌ها

عدم تحت کنترل قرار گرفتن دقیق رژیم غذایی (اندازه گیری انرژی دریافتی و مصرفی و عدم امکان اندازه گیری مستقیم حداکثر اکسیژن مصرفی (Vo2max) و تعیین شدت تمرین و افت آزمودنی‌ها بدلیل شدت تهاجمی تومور را می‌توان از محدودیت‌های این پژوهش برشمرد.

پیشنهاد برای مطالعات آتی

برای مطالعات آتی پیشنهاد می‌شود با توجه به افت آزمودنی‌ها و تاثیر احتمالی نوع و شدت تمرین از دوره‌های متفاوت تمرین هوازی و تمرینات دیگر مانند تناوبی و مقاومتی بر عوامل مورد بررسی در پژوهش حاضر و با حجم نمونه بیشتر مطالعه شود و با کنترل رژیم غذایی و محاسبه کالری و اندازه گیری مستقیم توان هوازی می‌تواند کار با دقت بیشتری انجام شود. و در مورد نقش و ارتباط عوامل التهابی با تغییرات حجم تومور و بیان ژن‌های مورد مطالعه تغییرات عوامل التهابی از قبیل سطوح بیان ژن NF-KB و IL-1B و IL-6 و TNF-a و MCP-1 و IL8 و IL10 و IL4 و سایر کموکاین‌های مرتبط در بافت تومور و بافت‌های دیگر مانند کبد و سرم نیز مورد بررسی و مطالعه قرار گیرد.

ملاحظات اخلاقی

رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی

دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی و بیانیه هلسینکی فنلاند در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد و طرح پژوهش با کد اخلاق IR.SSRC.REC.1401.342 در کمیته اخلاق پزشکی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی تصویب شد.

منابع مالی

هیچگونه حمایت مالی از افراد یا دستگاهها و نهاد های اجرایی و پژوهشی برای این پروژه استفاده نشد و با هزینه شخصی دانشجو انجام شد.

مشارکت نویسندگان

دانشجوی دکتری مریم موثق در مراحل اجرایی و نگارش رساله و مقاله و حسین عابد نطنزی در تجزیه و تحلیل آماری و نگارش و ویراستاری رساله و مقاله و ماندانا غلامی و فرشاد غزالیان در ویراستاری رساله و مقاله مشارکت داشتند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافی در این پژوهش و یا انتشار این مقاله ندارند.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از رساله دکتری رشته فیزیولوژی ورزش بود لذا از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی که در این پژوهش شرکت داشته‌اند تقدیر و تشکر می‌شود.

References

- Schadendorf, D., Fisher, D. E., Garbe, C., Gershenwald, J. E., Grob, J. J., Halpern, A., ... & Hauschild, A. (2015). Melanoma. Nature reviews Disease primers, 1(1), 1-20. [<https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.3>]

2. Lawrence, M. S., Stojanov, P., Polak, P., Kryukov, G. V., Cibulskis, K., Sivachenko, A., ... & Getz, G. (2013). Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature*, 499(7457), 214-218. [<https://doi.org/10.1038/nature12213>]
3. Jones, O. T., Jurascheck, L. C., Van Melle, M. A., Hickman, S., Burrows, N. P., Hall, P. N., ... & Walter, F. M. (2019). Dermoscopy for melanoma detection and triage in primary care: a systematic review. *BMJ open*, 9(8), e027529. [<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-027529>]
4. Jayaraj, G. G., Hipp, M. S., & Hartl, F. U. (2020). Functional modules of the proteostasis network. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 12(1), a033951. [[Link](#)]
5. Hipp, M. S., Kasturi, P., & Hartl, F. U. (2019). The proteostasis network and its decline in ageing. *Nature reviews Molecular cell biology*, 20(7), 421-435. [<https://doi.org/10.1038/s41580-019-0101-y>]
6. Thorsteinsdottir, J., Stangl, S., Fu, P., Guo, K., Albrecht, V., Eigenbrod, S., ... & Schichor, C. (2017). Overexpression of cytosolic, plasma membrane bound and extracellular heat shock protein 70 (Hsp70) in primary glioblastomas. *Journal of neuro-oncology*, 135, 443-452. [<https://doi.org/10.1007/s11060-017-2600-z>]
7. Wu, J., Liu, T., Rios, Z., Mei, Q., Lin, X., & Cao, S. (2017). Heat shock proteins and cancer. *Trends in pharmacological sciences*, 38(3), 226-256. [<https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.11.009>]
8. Min, X., Zhang, X., Li, Y., Cao, X., Cheng, H., Li, Y., ... & Ding, Z. (2020). HSPA12A unstabilizes CD147 to inhibit lactate export and migration in human renal cell carcinoma. *Theranostics*, 10(19), 8573. [<https://doi.org/10.7150/thno.44321>]
9. Fridman, W. H., Pagès, F., Sautès-Fridman, C., & Galon, J. (2012). The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nature Reviews Cancer*, 12(4), 298-306. [<https://doi.org/10.1038/nrc3245>]
10. Yin, H., Shao, Y., & Chen, X. (2017). The effects of CD147 on the cell proliferation, apoptosis, invasion, and angiogenesis in glioma. *Neurological Sciences*, 38, 129-136. [<https://doi.org/10.1007/s10072-016-2727-2>]
11. Kuang, Y. H., Chen, X., Su, J., Wu, L. S., Liao, L. Q., Li, D., ... & Kanekura, T. (2009). RNA interference targeting the CD147 induces apoptosis of multi-drug resistant cancer cells related to XIAP depletion. *Cancer letters*, 276(2), 189-195. [<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.11.010>]
12. Asjodi, F., Hossein Abed Natanzi, H., Abedi, B., & Gholami, M. (2022). The Effect of Resistance Training and Pineapple Extract on the Gene Expression of Matrix Metalloproteinases in the Liver Tissue of Mice with Melanoma Cancer. *Journal of Medical Council of Iran*, 40(4), 314-314. [[Link](#)]
13. Firoozi, M., Barari, A., Abbassi Dalooi, A., & Abednatanzi, H. (2022). The Effect of Interval Training and Consumption of Urtica dioica Hydroalcoholic Extract on Heat Shock Protein 70 and Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer in C57 Rats with Melanoma Cancer. *Razi Journal of Medical Sciences*, 29(9), 216-226. [[Link](#)]
14. Murphy, M. E. (2013). The HSP70 family and cancer. *Carcinogenesis*, 34(6), 1181-1188. [<https://doi.org/10.1093/carcin/bgt111>]
15. Hoshino, T., Matsuda, M., Yamashita, Y., Takehara, M., Fukuya, M., Mineda, K., ... & Mizushima, T. (2010). Suppression of melanin production by expression of HSP70. *Journal of Biological Chemistry*, 285(17), 13254-13263. [<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.103051>]
16. Fuchs-Tarlovsky, V. (2013). Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*, 29(1), 15-21. [<https://doi.org/10.1016/j.nut.2012.02.014>]
17. Stagos, D. (2019). Antioxidant activity of polyphenolic plant extracts. *Antioxidants*, 9(1), 19. [<https://doi.org/10.3390/antiox9010019>]
18. Michael, A., Hedayati, B., & Dalgleish, A. G. (2007). Disease regression in malignant melanoma: Spontaneous resolution or a result of treatment with antioxidants, green tea, and pineapple cores? A case report. *Integrative Cancer Therapies*, 6(1), 77-79. [<https://doi.org/10.1177/1534735406298897>]
19. Roussis, I. G., Lambropoulos, I., & Soulti, K. (2005). Scavenging capacities of some wines and wine phenolic extracts. *Food technology and Biotechnology*, 43(4), 351-358. [[Link](#)]

20. Gholamian, R., Lotfabadi, N. N., & Haghiralssadat, B. F. (2020). Evaluation of antioxidant and cytotoxic effects of liposomes containing pineapple fruit extract on Melanoma skin cancer (A375 Cell Line). *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. [<https://doi.org/10.18502/ssu.v28i2.3480>]
21. Raeisi, F., Raeisi, E., Shahbazi-Gahrouei, D., Heidarian, E., Amiri, M., & Gholami, M. (2016). Cytotoxicity effect of pineapple extract on breast cancer cells (4T1). *Journal of Isfahan Medical School*, 34(394), 946-951. [[Link](#)]
22. Septembre-Malaterre, A., Stanislas, G., Douraguia, E., & Gonthier, M. P. (2016). Evaluation of nutritional and antioxidant properties of the tropical fruits banana, litchi, mango, papaya, passion fruit and pineapple cultivated in Réunion French Island. *Food Chemistry*, 212, 225-233. [<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.147>]
23. Brannon-Peppas, L., & Blanchette, J. O. (2004). Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Advanced drug delivery reviews*, 56(11), 1649-1659. [<https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.02.014>]
24. Khorri, V., Shalamzari, S. A., Isanejad, A., Alizadeh, A. M., Alizadeh, S., Khodayari, S., ... & Fayad, R. (2015). Effects of exercise training together with tamoxifen in reducing mammary tumor burden in mice: possible underlying pathway of miR-21. *European journal of pharmacology*, 765, 179-187. [<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.08.031>]
25. Jones, L. W., Viglianti, B. L., Tashjian, J. A., Kothadia, S. M., Keir, S. T., Freedland, S. J., ... & Dewhirst, M. W. (2010). Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. *Journal of applied physiology*, 108(2), 343-348. [<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00424.2009>]
26. Amani-Shalamzari, S., Aghaalinejad, H., Alizadeh, S. H., Kazemi, A. R., Saei, M. A., Minayi, N., & Shokrolahi, F. (2014). The effect of endurance training on the level of tissue IL-6 and VEGF in mice with breast cancer. *Journal of Shahrood University of Medical Sciences*, 16(2). [[Link](#)]
27. Bacurau, A. V. N., Belmonte, M. A., Navarro, F., Moraes, M. R., Pontes Jr, F. L., Pesquero, J. L., ... & Bacurau, R. F. P. (2007). Effect of a high-intensity exercise training on the metabolism and function of macrophages and lymphocytes of walker 256 tumor-bearing rats. *Experimental Biology and Medicine*, 232(10), 1289-1299. [<https://doi.org/10.3181/0704-RM-93>]
28. Murphy, E. A., Davis, J. M., Barrilleaux, T. L., McClellan, J. L., Steiner, J. L., Carmichael, M. D., ... & Green, J. E. (2011). Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine*, 55(2), 274-279. [<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2011.04.007>]
29. Sun, X., Yang, P., & Jiang, Y. (2020). CD147 promotes melanoma cell growth via SOX4-mediated glycolytic metabolism. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 19(12), 2521-2527. [<https://doi.org/10.4314/tjpr.v19i12.6>]
30. Bhui, K., Tyagi, S., Srivastava, A. K., Singh, M., Roy, P., Singh, R., & Shukla, Y. (2012). Bromelain inhibits nuclear factor kappa-B translocation, driving human epidermoid carcinoma A431 and melanoma A375 cells through G2/M arrest to apoptosis. *Molecular carcinogenesis*, 51(3), 231-243. [<https://doi.org/10.1002/mc.20769>]
31. Pezzani, R., Jimenez-Garcia, M., Capo, X., Sönmez Gürer, E., Sharopov, F., Rachel, T. Y. L., ... & Calina, D. (2023). Anticancer properties of bromelain: State-of-the-art and recent trends. *Frontiers in oncology*, 12, 1068778. [<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1068778>]