

تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر سروتونین و گیرنده‌های آن در هیپوکامپ موش‌های افسرده مبتلا به سرطان پستان

شفق ایزدپناه^۱، محمدرضا کردی^{۲*}، رضا نوری^۳^۱گروه فیزیولوژی ورزش، پردیس بین الملل کیش، دانشگاه تهران، تهران، ایران، ^۲گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۰۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: در بین انواع سرطان‌ها، سرطان پستان شایع‌ترین است از طرفی، سن بروز سرطان پستان در زنان ایران دست کم یک دهه کمتر از زنان کشورهای توسعه یافته است. نقش فعالیت بدنی در بهبود انواع سرطان مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه تعیین و بررسی تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر سروتونین و گیرنده‌های آن در هیپوکامپ موش‌های افسرده مبتلا به سرطان پستان بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که بر روی ۳۰ سر موش ماده نژاد بالبسی با سن ۶-۸ هفته و میانگین وزن بدن ۱۷-۱۸ گرم شرکت داشتند، موش‌ها به طور تصادفی در ۳ گروه؛ کنترل سالم، کنترل سرطانی و تمرین سرطانی قرار گرفتند. سرطان پستان با تزریق سلول MC4-L2 ایجاد گردید. افسردگی نمونه‌ها از آزمون شنای اجباری (FST) پیش و پس از اجرای پروتکل ورزشی استفاده شد. گروه تمرین سرطانی، تمرینات هوازی را شش هفته و ۵ بار در هفته با افزایش تدریجی شدت از ۱۲ متر به ۲۰ متر در دقیقه و زمان از ۲۵ دقیقه تا ۵۵ دقیقه انجام دادند. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، بافت هیپوکامپ موش‌ها استخراج و غلظت سروتونین (پیکوگرم بر می‌لیتر) به روش الایزا و گیرنده‌های نوع سوم و هفتم آن به روش qRT-PCR اندازه‌گیری شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های کولموگروف - اسمی‌نوف، آنالیز واریانس دو طرفه، آنوا و تعقیبی بونفرونی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: می‌زان سروتونین در گروه تومور تمرین افزایش ($p=0/001$) یافت. بیان mRNA گیرنده‌های 5-HT3 و 5-HT7 به ترتیب ($p=0/009$) و ($p=0/045$) در اثر سرطان کاهش یافت، که پس از شش هفته تمرین هوازی تغییر معنی‌داری ($p=0/689$) و ($p=0/415$) نشان ندادند. افسردگی در گروه تمرین سرطانی به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل سرطانی بود ($p=0/001$).

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش نشان داد شش هفته ورزش هوازی می‌تواند سروتونین هیپوکامپ را افزایش دهد و موجب کاهش افسردگی شود، ولی بر بیان گیرنده‌های سروتونینی نوع ۳ و ۷ هیپوکامپ موش‌های مبتلا به سرطان پستان اثر ندارد. پژوهش‌های بیشتر در این زمینه پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، سرطان، سروتونین، گیرنده نوع ۳ و ۷ سروتونین، افسردگی

*نویسنده مسئول: محمدرضا کردی، تهران، دانشگاه تهران، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email:mrkordi@ut.ac.ir.com

مقدمه

در بین انواع سرطان‌ها، سرطان پستان شایع‌ترین بوده و در ایران از هر ۱۰ تا ۱۵ زن، احتمال ابتلای یک نفر به سرطان پستان وجود دارد. از طرفی، سن بروز سرطان پستان در زنان ایران دست کم یک دهه کمتر از زنان کشورهای توسعه یافته است (۱). پژوهش‌ها نشان داده‌اند، ۵۰ تا ۸۵ درصد بیماران مبتلا به سرطان، به طور هم‌زمان از اختلال افسردگی رنج می‌برند (۲). می‌زان افسردگی افراد مبتلا به سرطان پستان بر زندگی و روند درمان این بیماران تأثیرگذار است و عوارضی مانند؛ بیماری‌های قلبی، کلیوی و بسیاری از بیماری‌های دستگاه عصبی محیطی و مرکزی دارد (۳). از نظر زیست‌شناختی افسردگی یک اختلال انگیزشی است که در اثر کمبود آمی‌ن‌های بیورژنیک ایجاد می‌شود. نظرات درباره مبنای نوروشیمیایی افسردگی، اغلب پیرامون کاهش سروتونین و نوراپی نفرین قرار دارد (۱۱-۴). در بین بیماران افسرده اقدام به خودکشی در افرادی فراوان‌تر است که سطوح سروتونین پایین‌تری دارند (۴). لا ووی و همکاران در یک مطالعه مروری عنوان کردند، تحمیل شرایط افسردگی‌زا در موش‌ها باعث کاهش سروتونین مغزی می‌شود (۱۲). هم‌چنین بیماران افسرده مبتلا به سرطان، مقادیر بیشتری از سایتوکاین‌های^(۱) التهابی، کموکاین‌ها^(۲) و مولکول‌های چسبان سلولی (CAMs)^(۳) دارند (۱۲). به علاوه، سایتوکاین‌های التهابی با دامنه‌های پاتوفیزیولوژیایی وسیعی، اثرات متقابلی بر افسردگی را توصیف

می‌کنند و شامل کاهش متابولیسم میانجی‌های عصبی، اختلال در عملکرد عصبی- غدد درون ریز و کاهش انعطاف‌پذیری سیناپسی است (۱۳ و ۱۲، ۳). در کل، به نظر می‌رسد، سرطان پستان می‌تواند با واسطه برخی سازوکارهای پاتوفیزیولوژیایی خطر ابتلا به افسردگی را در افراد مبتلا افزایش دهد.

داروهای ضد افسردگی مانند تری‌سایکلک و بازدارنده‌های منوآمی‌ن‌اکسیدازها (MAOIs)^(۴)، انتقال عصبی مرکزی را با کاهش غلظت سایتوکاین‌ها و پروستاگلاندین E2^(۵) در مغز، به‌هنگام می‌کنند (۱۴). افزایش عوامل التهابی ناشی از سرطان و افسردگی، باعث افزایش عملکرد التهابی ایندول آمی‌ن ۲ و ۳ داکسیژناز (IDO)^(۶) و در نهایت تولید کینورین^(۷) در دستگاه عصبی مرکزی و در پی آن افزایش متابولیت‌های سمی عصبی در مغز می‌شود که باعث اختلال در سنتز و عملکرد تریپتوفان و سایر پیش‌سازهای می‌انجی‌های عصبی در مغز می‌شود (۱۲). از طرف دیگر، میانجی‌های عصبی مانند؛ سروتونین، رشد سلول‌های عصبی را در چرخه سلولی تنظیم و فرآیند نروژنز از سلول بنیادی تا تشکیل یک سلول عصبی بالغ را کنترل می‌کنند و ظرفیت عملکردی عصبی مرکزی را از راه فعال‌سازی گیرنده‌های سروتونینی و آبشارهای پیام‌رسان

1-Sytokines
2-Chemokines
3-Cell Adhesion Molecules (CAMs)
4-Monoamine oxidase
5-Prostaglandin E2
6-Indolamine 2,3 Dioxigenase
7-Kynurenine

افزایش می‌دهند (۱۵). در می‌ان زیر مجموعه‌های گیرنده سروتونین، گیرنده سروتونین نوع ۳^(۱) تنها گیرنده یونوتروپیک این میانجی عصبی است که برای نروژنز هیپوکامپ در اثر ورزش ضروری می‌باشد (۱۶). گیرنده 5HT7 هتورسپتور GaS است که در تعامل بین دستگاه سروتونرژایی و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال مؤثر است (۱۷). بر اساس پژوهش‌ها، کاهش غلظت گیرنده‌های 5HT3 و 5HT7 پس از درمان مزمن با ضد افسردگی‌ها در مناطق مختلف مغز به ویژه هیپوکامپ فرضیه تأثیر این گیرنده‌ها را در افسردگی تأیید می‌کنند (۱۷-۱۴). در پژوهش کنده و همکاران، گیرنده 5HT3 برای نروژنز ناشی از ورزش هوازی در موش‌های افسرده ضروری است و در موش‌های فاقد این گیرنده، پس از ورزش بهبودی در نروژنز هیپوکامپ و افسردگی آنها مشاهده نکردند (۱۶ و ۱۵). فعالیت ورزشی منظم مزایای درمانی ثابت شده‌ای مانند معالجه بیماری‌های روانی، تقویت بهبود آسیب مغزی و بیماری‌های مقاوم تخریب کننده عصبی دارد. تنظیم عوامل وابسته به اعصاب، عروق، میانجی‌های التهابی و عصبی در تأثیر فعالیت بر عملکرد مغزی دخالت دارند (۱۶، ۱۵، ۱۲). در می‌ان این تأثیرات ترشح انتقال دهنده‌های عصبی به ویژه منو آمین‌ها به سازگاری ناشی از ورزش وابسته است (۱۸). این احتمال وجود دارد که در بیماران مبتلا به سرطان پستان که دچار افسردگی می‌شوند، در اثر فعالیت ورزشی بتوان با تغییر غلظت سروتونین مایع خارج سلولی، سیستم سروتونرژایی

را که شامل ۱۴ یا تعداد بیشتری گیرنده است، با خود همراه کند و در مرحله نهایی، به عنوان یک تعدیل کننده اساسی در مغز و سایر بافت‌ها عمل کند. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر سروتونین و گیرنده‌های آن در هیپوکامپ موش‌های افسرده مبتلا به سرطان پستان بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۲۰ سر موش ماده نژاد بالبسی با سن ۸-۶ هفته و میانگین وزن بدن ۱۸-۱۷ گرم از مؤسسه پاستور خریداری شدند و به حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز منتقل شدند. در همه موارد مسایل اخلاقی با توجه به استانداردهای کمی‌ته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز رعایت گردید. شرایط و کار با حیوانات طبق مقررات و با توجه به توصیه‌های قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH) انجام شد. حیوانات در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز نگهداری و در انتهای مطالعه تحت بیهوشی عمیق کشته شدند. این مطالعه مورد تأیید کمی‌ته اخلاقی مراقبت‌های حیوانی مرکز پزشکی مقایسه‌ای و تجربی دانشگاه علوم پزشکی شیراز قرار گرفت.

موش‌ها در شرایط استاندارد آزمایشگاه تحت چرخه ۱۲:۱۲ ساعت (تاریکی - روشنایی) نگهداری شدند و با غذای مخصوص موش و آب تغذیه شده و بعد از یک هفته نگهداری، با محیط آزمایشگاه آشنا شدند.

هفته یک بار، طول و عرض تومور به وسیله کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول جونز و همکاران [$V=1/2(L2 \times W)$] می‌زان آن تعیین شد (۲۰) و برای تأیید و ارزیابی نهایی بافت تومور، در انتهای مطالعه بخشی از تومورهای استخراج شده به تانک ازت منتقل و سپس در فریزر ۷۰- برای انجام سنجش‌های مولکولی قرار گرفت. در این مرحله همه موش‌ها سرطانی شدند، ولی تعداد ۸ موش در طی این دو هفته از بین رفتند.

بر اساس وزن به صورت تصادفی ۸ موش برای گروه کنترل سالم انتخاب و ۲۴ موش سرطانی شدند (با در نظر گرفتن احتمال مرگ و می‌ر). دو هفته پس از تزریق و پیدایش تومور، موش‌ها به صورت تصادفی به ۳ گروه تومور-ورزش (۱۲=تعداد) و گروه تومور-کنترل (۱۲=تعداد) و گروه کنترل سالم (۸=تعداد) تقسیم شدند. در انتهای تحقیق ۶ سر موش در گروه‌های کنترل سالم و تومور ورزش و ۸ سر موش در گروه تومور کنترل برای بافت‌برداری به آزمایشگاه منتقل شدند. گروه تمرینی، پروتکل تعدیل شده تمرین‌های دوییدن روی نوارگردان آوسه و همکاران (۲۱) را به مدت شش هفته مطابق جدول ۱ انجام دادند. برای گروه‌های تومور کنترل و کنترل سالم مداخله‌ای انجام نشد. ساعت اجرای تمرین‌ها برای گروه تمرین ثابت بود (۶ تا ۸ عصر) و به جز روزهای دوشنبه و جمعه اجرا شد.

از مرکز پژوهش‌های سرطان، انستیتو کانسر ایران، رده سلول‌های MC4-L2 تهیه و در فلاسک T75 در محیط DMEM/F-12 با ۱۵ می‌لی‌مول بافر HEPES، گلوتامین، پنی‌سلین ۱۰۰ نانوگرم بر می‌لی‌لیتر، استراپتوما سین ۱۰۰ نانوگرم بر می‌لی‌لیتر و FBS ۱۰ درصد کشت داده شدند. به این منظور، پس از پرکردن ۹۰ درصد سطح فلاسک به وسیله سلول‌ها، مایع رویی برداشت شده و پس از شستشو با PBS، در مرحله بعد با تریپسین ۰/۰۲۵٪ از کف پلیت سلول‌ها جدا شده و پس از خنثی‌سازی آنزیم با محیط حاوی FBS ۱۰ درصد، همه محتویات فلاسک را داخل لوله فالكون ریخته و در دور ۱۲۰۰ به مدت ۵-۳ دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد، مایع رویی برداشته و پلاک سلولی، در داخل محیط حاوی FBS ۱۰ درصد حل شد. سپس برای تعیین زنده ماندن و شمارش سلولی به ترتیب از تریپان بلو و لام هماسیتومتر استفاده شد (۱۹). در ابتدا سلول‌های مورد نظر در محیط آزمایشگاهی به منظور دستیابی به می‌زان معینی از سلول کشت داده شدند و پس از آن که تعداد سلول به اندازه مورد نیاز رسید، سوسپانسیون سلولی با تراکم ۱۰ می‌لیون در هر می‌لی‌لیتر بافر PBS تهیه شد. سپس به هر موش بالبسی ماده پس از بیهوشی با دوز مناسب کتامین و زایلازین (۱۰ می‌لی‌گرم به ۱ می‌لی‌گرم)، یک می‌لیون سلول به شکل زیر جلدی به ناحیه بالای ران سمت راست تزریق شد (۱۹). دو هفته پس از تزریق، تومور در محل تزریق قابل لمس بود و پس از پیدایش تومور، در گروه‌ها هر

1-Force Swim Test(FST)
2-Immobility Time

آزمون شنای اجباری^(۱) برای سنجش افسردگی؛ در این آزمون افزایش زمان بی حرکتی^(۲) معادل افسردگی و کاهش آن به مانند اثر ضدافسردگی ثبت شد (۲۳ و ۲۲). یک روز (۲۴ ساعت؛ ۰۹ صبح) قبل از سرطانی شدن و یک روز (۲۴ ساعت؛ ۰۹ صبح) پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه در معرض تست شنای اجباری قرار گرفتند و مجموع زمان بی حرکتی در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. موش‌ها به طور جداگانه در استوانه‌ای به قطر ۱۲ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر تا ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر از آب پر شده و به آرامی در آن قرار داده می‌شدند که حاوی آب با دمای (۲۳-۲۴) درجه سانتی‌گراد بود. به طور قراردادی قطع حرکات دست و پا به عنوان زمان بی حرکتی و حرکات دورانی حیوان در دور استوانه به عنوان زمان شنا کردن در نظر گرفته می‌شد. کل آزمون ۶ دقیقه بود که ۲ دقیقه اول برای سازگاری حیوان به محیط در نظر گرفته شده و در ۴ دقیقه بعد مدت زمان هر یک از رفتارهای بی حرکتی، شنا کردن و صعود کردن به وسیله کورنومتر (سیتیزن، ساخت ژاپن) برحسب ثانیه ثبت شدند. تمامی اقدامات و آزمایش‌ها بر اساس آیین‌نامه حمایت از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

در پایان هفته ششم برنامه تمرینی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه، موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیب زایلازین و کتامین بیهوش شده (۹ صبح) و در شرایط استریل، هیپوکامپ استخراج و در نیتروژن منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد منجمد شد. در آزمایشگاه، قطعات هیپوکامپ به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم

انتخاب و در ظرف هموژنایزر حاوی محلول MSF (یک میلی‌مولار حل شده در اتانول) به می‌زان یک میلی‌لیتر و ۹۹ میلی‌لیتر PBS قرار داده و به طور دستی شروع به هموژن کردن بافت شد. بافت هیپوکامپ کاملاً خرد شده و اجزاء آن خارج شدند. سوسپانسیون رویی حاصل به می‌کروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس می‌کروتیوب‌ها به مدت ۲۵ دقیقه در دور ۱۵۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد تا در طی این مدت اجزاء بزرگتر رسوب نمایند. سپس محلول رویی به دست آمده به لوله‌های می‌کروتیوب‌های تمیز منتقل شد و می‌زان کمی پروتئین Serotonin، به روش الایزا با وسایله کیت mouse (serotonin/5hydroxytryptamine) شرکت میهن آزما با حساسیت ۰/۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات درون گروهی ۴/۷ اندازه‌گیری شد. برای بررسی تغییرات بیان ژن 5-HT7 و 5-HT3 از qRT-PCR استفاده شد. بدین منظور ابتدا RNA سلول‌ها استخراج شد و سپس در طی مراحل به نام DNase I treatment، با DNase I تیمار شد. در صورت وجود DNA اضافی در نمونه، DNA حذف شد. در نهایت cDNA ساخته شد و واکنش‌های qRT-PCR انجام و بیان ژن‌ها بررسی شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری

در اثر سرطان کاهش یافت ($p=0/009$) و ($p=0/045$)، که پس از شش هفته تمرین هوازی تغییر معنی‌داری ($p=0/689$) و ($p=0/415$) نشان ندادند.

پس از گذشت شش هفته تمرین هوازی میزان زمان بی حرکتی در آزمون شنای اجباری (FST) گروه تومور تمرین نسبت به گروه‌های تومور-کنترل و کنترل-سالم کاهش یافت ($p<0/001$) که نشان دهنده کاهش افسردگی در گروه تمرینی است (جدول ۲).

کولموگروف - اسمی رنوف، تحلیل واریانس دو طرفه، آنوا و تعقیبی بونفرونی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

مقادیر سروتونین، گیرنده 5HT3، گیرنده 5HT7 و افسردگی گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه شده است. پس از شش هفته تمرین هوازی، می‌زان سروتونین در گروه تومور تمرین افزایش ($p=0/001$) یافت. بیان mRNA گیرنده‌های 5-HT3 و 5-HT7 به ترتیب

جدول ۱: برنامه تمرین هوازی برای گروه تمرین سرطان

تکرار (روز در هفته)	زمان (دقیقه)	سرعت (متر بر دقیقه)	دوره تمرین
۵	۲۰	۱۰	یک هفته آشناسازی
۵	۲۵	۱۲	هفته اول
۵	۳۰	۱۴	هفته دوم
۵	۳۵	۱۶	هفته سوم
۵	۴۵	۱۸	هفته چهارم
۵	۵۵	۲۰	هفته پنجم و ششم

جدول ۲: میانگین و انحراف استاندارد سطوح سروتونین، گیرنده‌های 5HT3 و 5HT7 هیپوکامپ موش‌های افسرده مبتلا به سرطان پستان

میانگین و انحراف استاندارد			
سطح معنی- داری	تمرین سرطان (تعداد= ۶)	کنترل سرطان (تعداد= ۸)	کنترل سالم (تعداد= ۶)
*.0/0047	0/435 ± 0/064	0/263 ± 0/097	0/494 ± 0/058
0/689	0/114 ± 0/040	0/102 ± 0/023	0/270 ± 0/068
0/415	0/196 ± 0/041	0/305 ± 0/348	0/582 ± 0/129
	46/82 ± 8/795	47/25 ± 5/849	44/32 ± 5/354
*.0/0001	98/166 ± 10/225	142/28 ± 7/204	44/17 ± 4/708

*معنی‌داری نسبت به گروه تومور کنترل

بحث

مطالعات نشان داده است که بین ۵۰ تا ۸۵ درصد از بیماران مبتلا به سرطان، به طور همزمان از اختلال افسردگی رنج می‌برند که بر زندگی و روند درمان این بیماران تأثیرگذار است (۲).

به نظر می‌رسد یکی از روش‌های تعاملی که بر ابعاد جسمانی انسان به خوبی تأثیر گذاشته و باعث پرورش آن‌ها می‌شود، تمرین‌های هوازی می‌باشد که آثار مختلفی را بر ساختار و عملکرد مغز ایجاد می‌کند (۳)، لذا هدف از این پژوهش بررسی تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر سروتونین و گیرنده‌های آن در هیپوکامپ موش‌های افسرده مبتلا به سرطان پستان بود.

در این پژوهش نشان داده شد، میزان سروتونین هیپوکامپ در گروه تمرین بیشتر از گروه کنترل سالم و گروه کنترل سرطان است که نشان دهنده افزایش سروتونین پس از شش هفته تمرین هوازی بوده است. همچنین، در گروه تمرینی مورد مطالعه، افسردگی (زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری) به طور معنی‌داری کاهش یافت که نشان می‌دهد علاوه بر سروتونین و گیرنده‌های آن، عامل ورزش می‌تواند در کاهش افسردگی مؤثر و مفید باشد. فعالیت ورزشی اثرات مختلفی را بر ساختار و عملکرد مغز ایجاد می‌کند که یافته‌های پژوهش حاضر در افزایش میانجی‌های عصبی مانند سروتونین با یافته‌های کلمپاین و همکاران، کندو و همکاران و اثرات ضد افسردگی با یافته‌های نابکاسورن و همکاران،

کندو و همکاران و لاووی و همکاران هم‌خوانی دارد (۲۵ و ۲۴، ۱۸، ۱۶، ۱۲، ۱۵). سروتونین بین افسردگی و نروژنز هیپوکامپ و یا دیگر بخش‌های مغزی اشباع از سلول‌های سروتونرژایی ارتباط عملکردی دارد و اثرات داروهای ضد افسردگی که سیستم سروتونین مرکزی را هدف قرار می‌دهند، تعدیل می‌کند (۱۸ و ۱۷، ۱). هر دو عامل سروتونین و ورزش ویژگی‌های نروژنزیایی و اثرات ضد افسردگی دارند (۲۴ و ۱۸، ۶). پژوهش‌ها نشان می‌دهند، التهاب ناشی از سرطان پستان باعث افزایش سایتوکاین‌های اینترلوکین ۶ و عامل نکروز توموری آلفا می‌شود و این سایتوکاین‌ها با افزایش فعالیت آنزیم ایندول آمین ۲ و ۳ دی اکسیژناز در مغز باعث تغییر متابولیسم تریپتوفان و کاهش تولید سروتونین و افزایش تولید کینورین (ماده سمی عصبی) در مغز می‌شوند که می‌توانند موجب افسردگی و اختلال عصبی شوند (۱۶ و ۱۳، ۱۲). بنابراین افزایش سروتونین ناشی از فعالیت هوازی این مطالعه می‌تواند از دلایل احتمالی کاهش افسردگی باشد که احتمالاً با کاهش عوامل التهابی (۲۵) و کاهش تحریک سیستم سمپاتیک و افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی، رهایش میانجی‌های التهابی β IL-۱ و TNF- α را مهار می‌کند و به دنبال آن غلظت مولکول‌های چسبان سلولی کاهش می‌یابد و هرچند تأیید این موضوع به مطالعات بعدی نیاز دارد، با این حال، احتمالاً با توجه به اثرات کاهش‌دهنده عوامل التهابی و سمی عصبی ورزش هوازی (۱۲) افزایش سنتز سروتونین و بهبود عملکرد تریپتوفان در

مطالعه در این پژوهش (هیپوکامپ نسبت به کل مغز در پژوهش‌های دیگر) و گذر از مرحله حاد بیان ژن و تولید پروتئین (۴۸ ساعت پس از تمرین، بافت‌برداری انجام شد) مربوط است. این گیرنده‌ها هدف اصلی محرک عملکرد سروتونین در پاسخ نروژنز هیپوکامپ و رفتار ضد افسردگی می‌باشد که در اثر ورزش افزایش می‌یابد (۲۸ و ۱۵). همچنین افزایش گیرنده‌های سروتونین در افسردگی، می‌تواند به علت کاهش سروتونین و در نتیجه پاسخ جبرانی به کاهش دسترسی به سروتونین باشد که با شدت و مدت افسردگی مرتبط است، لذا در مطالعه حاضر احتمالاً به دلیل افزایش سطح سروتونین در اثر فعالیت هوازی، این گیرنده افزایش نیافته است. در مطالعه‌ای نشان داده شد، استرس خفیف منجر به افسردگی می‌شود و بر فرایبانی mRNA گیرنده 5-HT₇ در هیپوکامپ و هیپوتالاموس تأثیر دارد (۲۸). به نظر می‌رسد این گیرنده نقش مهمی در انتقال پیام عصبی سروتونرژایی دارد و برای بهبود افسردگی به وسیله آنتاگونیست‌های دارویی مهار می‌شود (۲۹). یافته‌های رجاس و همکاران نشان می‌دهد درگیر شدن 5-HT_{1A} R و 5-HT₇ R در مورفولوژی نرون‌های هیپوکامپ موش با بررسی کشت اولیه در ۲ روز در شرایط *in vitro* با آنتاگونیست‌های انتخابی 5-HT نشان می‌دهد هر دو گیرنده سروتونرژایی در رشد ثانویه عصب شرکت دارند (۳۰). بنابراین در این پژوهش این گیرنده می‌تواند با تعدیل و تنظیم کاهشی در اثر تمرین هوازی موجب افزایش نروژنز و احتمالاً کاهش

بیماران افسرده مبتلا به سرطان پستان را در پی داشته باشد. با توجه به این که در مطالعه حاضر مداخله تمرینی از نوع استقامتی بود و به طور تدریجی افزایش یافت تا این که مدت زمان تمرین طی ۶ هفته از ۲۵ دقیقه با شدت ۱۲ متر در دقیقه در شروع پروتکل به ۵۵ دقیقه و شدت ۲۰ متر در دقیقه اجرا شد، طبق پژوهش نیشی و همکاران، افزایش تدریجی شدت تمرین بر ترمیم موجب افزایش قابل توجهی در سطح سروتونین هیپوکامپ می‌شود که می‌تواند ناشی از افزایش بیان cfos در نرون‌های سروتونینی هسته پشتی رافه باشد (۲۶). لیپولیز واسطه‌ای است که نقش کلیدی در اثر تمرین هوازی ایفا می‌کند (۲۷). افزایش اسید چرب آزاد با تمرین‌های هوازی ممکن است باعث افزایش تریپتوفان پلاسما شود که پیش‌ساز سروتونین است و افزایش تریپتوفان مغزی را نیز موجب می‌شود (۲۶). به نظر می‌رسد افزایش سروتونین هیپوکامپ وابسته به این مداخله تمرینی توانسته سبب بهبود افسردگی نمونه‌ها شود.

در این مطالعه، میزان بیان ژن گیرنده‌های نوع ۳ و ۷ سروتونین در گروه تمرین نسبت به گروه بدون تمرین تفاوت معنی‌داری نشان نداد، اما به طور معنی‌داری کمتر از گروه سالم است که نشان می‌دهد افسردگی و سرطان پستان باعث کاهش گیرنده‌های سروتونین می‌شود. این نتایج با نتایج پژوهش‌های انجام شده به وسیله کریستین و همکاران و امی‌دفر و همکاران همخوانی دارد، ولی با نتایج کلمپاین و کندو و همکاران همخوانی ندارد که احتمالاً به ناحیه مورد

افسردگی باشد، هر چند تأیید این ادعا به پژوهش‌های آینده نیاز دارد. هیپوکامپ با تأثیر خود بر هیپوتالاموس بر ریتم شبانه روزی، تنظیم دمای بدن و غدد درون ریز ارتباط دارد و می‌تواند برای تنظیم خواب، خلق و خو و صرع اهمیت داشته باشد (۲۹). علاوه بر این، نقش این گیرنده در تنظیم مسیر cAMP و غلظت آن در ناحیه مغز *in vivo* نشان داده شده است (۳۱). این پژوهش‌های غیرمستقیم نشان می‌دهند، اثر ضدافسردگی‌ها با اتصال به گیرنده‌ها، در کاهش افسردگی مهم هستند. به نظر می‌رسد پروتکل ورزشی استقامتی پژوهش حاضر توانسته است در کاهش گیرنده‌های نوع ۳ و ۷ سروتونین از طریق افزایش سروتونین مؤثر باشد. هر چند کاهش مشاهده شده در این گیرنده‌ها بین دو گروه تومور تمرین و تومور کنترل معنی‌دار نبود. تفاوت در نوع تمرین‌های (شدت و مدت زمان، تمرین داوطلبانه در مقابل اجباری) و نوع سلول‌های سرطانی و روش‌های آزمایشگاهی اندازه‌گیری گیرنده‌ها و افسردگی (۱۵) و محل کاشت تومور (ارتوتوپیک در مقابل زیر جلدی) و نوع بافت مورد سنجش (بافت تومور یا سرم در مقابل هیپوکامپ) و تعداد آزمودنی‌های مورد مطالعه احتمالاً از دلایل تضاد یافته‌ها با پژوهش‌های قبلی محسوب می‌شود (۱۸ و ۱۶).

برای تشخیص افسردگی در این پژوهش از آزمون شنای اجباری استفاده شد، که برای کاستن از شدت این محدودیت از آزمونگر خبره در این کار استفاده شد. با توجه به محدودیت اندازه‌گیری

تغییرات مغزی در نمونه‌های انسانی دارای سرطان پستان، در این تحقیق نمونه از موش استفاده شد. این مطالعه تنها بر روی جنس ماده انجام شد. در این صورت هر چند نتایج مطالعه قابل تعمیم به جنس نر نیست، نمونه‌های گروه کنترل، موش‌های ماده نژاد بالبسی بودند که هیچ فعالیت بدنی منظم و مستمر از قبل نداشتند و در موش‌های با دامنه سنی ۶ تا ۷ هفته ای انجام شد.

پیشنهاد می‌شود تحقیقی تحت عنوان بررسی اثر تمرینات هوازی بر روی برخی از فاکتورهای هموتولوژیک و بیوشیمی‌ایی مرتبط با عوامل بررسی شده در مناطق جغرافیایی مختلف و روی نژادهای متفاوت صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش نشان داد شش هفته ورزش هوازی می‌تواند سروتونین هیپوکامپ را افزایش دهد و موجب کاهش افسردگی شود، ولی بر بیان گیرنده‌های سروتونینی نوع ۳ و ۷ هیپوکامپ موش‌های مبتلا به سرطان پستان اثر ندارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله بر گرفته از پایان نامه دوره دکترای تخصصی فیزیولوژی ورزشی با کد ۲۲۲۵۱۲۵ از دانشگاه علوم پزشکی شیراز می‌باشد، که با حمایت این دانشگاه انجام شد، با تشکر از مرکز پژوهش‌های دانشگاه علوم پزشکی تهران، شیراز و یاسوج که برای اجرای این پژوهش نهایت همکاری را داشتند.

REFERENCES

1. Malekian A, Alizadeh A, Ahmadzadeh GH. Anxiety and depression in cancer patients. *Journal of Research in Behavioural Sciences* 2007; 5(2): 115-8.
2. Zareian E, Rahmati F. Effect of aerobic exercise on anxiety, depression and quality of life in female breast cancer patient. *Science Psychology* 2005;17(5):17-34.
3. Amidfar M, Kim Y, Lejla C, Arbabi M, Mobaraki G, Hassanzadeh G, et al. Increased levels of 5HT_{2A} receptor mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with major depression: correlations with severity and duration of illness. *Nordic Journal of Psychiatry* 2016; 72: 1605-21.
4. Rezaee F. (Translator): Sadock Kaplan Benjamin Jams (editors), *Synopsis of psychiatry: behavioral sciences, clinical psychiatry*. 10th ed. Tehran: Published Arjmand; 2007; 144- 52.
5. Jenkins Trisha A, Nguyen Jason CD, Polglaze Kate E, Paul P. Influence of tryptophan and serotonin on mood and cognition with a possible role of the gut-brain axis. *Nutrients* 2016; 8(1): 56.
6. Hemmat Far A, Shahsavari A, Hadi T. The effect of eight weeks of aerobic training on depression and plasma serotonin concentration in depressed female students of Aligudarz, 18-25 years old. *Sport Biosciences* 2013; 13(5): 51-62.
7. Owens MJ. Selectivity of antidepressants: From the monoamine hypothesis of depression to the SSRI revolution and beyond. *J Clin Psychiatry* 2004; 65: 5-10.
8. Young SN. Acute tryptophan depletion in humans: A review of theoretical, practical and ethical aspects. *J Psychiatry Neurosis JPN* 2013; 38: 294-305.
9. Feder A, Skipper J, Blair JR, Buchholz K, Mathew SJ, Schwarz M, et al. Tryptophan depletion and emotional processing in healthy volunteers at high risk for depression. *Biological Psychiatry* 2011; 69(8): 804-7.
10. Young SN, Smith SE, Pihl RO, Ervin FR. Tryptophan depletion causes a rapid lowering of mood in normal males. *Psychopharmacology* 1985; 87: 173-7.
11. Von AHD, Skaar T, Unverzagt F, Yu MG, Wu J, Schneider B, et al. Evaluating the role of serotonin on neuropsychological function after breast cancer using acute tryptophan depletion. *Biological Research Nursing* 2012; 14(1): 5-15.
12. LaVoy Emily CP, Fagundes Christopher P, Dantzer R. Exercise, inflammation, and fatigue in cancer survivors. *Cancer-Related Fatigue* 2016; 39(1): 111-21.
13. Smith Hamish R. Depression in cancer patients: Pathogenesis, implications and treatment (Review). *Oncological Letter* 2015; 9(4): 1509-14.
14. Christine N. Yohn Mark M. Gergues and Benjamin Adam Samuels. The role of 5-HT receptors in depression. *Molecular Brain* 2017; 10: 28.
15. Kondo M. Molecular mechanisms of experience-dependent structural and functional plasticity in the brain. *Anatomy Science Int* 2017 92: 1-17.
16. Kondo M, Nakamura Y, Ishida Y, Shimada S. The 5-HT₃ receptor is essential for exercise-induced hippocampal neurogenesis and antidepressant effects. *Mol Psychiatry* 2015; 20(11): 1428-37.
17. Hedlund Peter B. The 5-HT₇ receptor and disorders of the nervous system: an overview. *Psychopharmacology(Berl)* 2009; 206(3): 345-54.
18. Klempin F, Daniel B, Valentina M, Gerd K, Michael B, Natalia A. Serotonin Is Required for Exercise-Induced Adult Hippocampal Neurogenesis. *Neuroscience* 2013; 33(19): 8270-5.
19. Khor V, Amani Shalamzari S, Isanejad A, Alizadeh AM, Alizadeh S, Khodayari S, et al. Effects of exercise training together with tamoxifen in reducing mammary tumor burden in mice: Possible underlying pathway of miR-21. *Eur J Pharmacol* 2015; 765: 179-87.
20. Jones LW, 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* 2010; 108(2): 343-48.
21. Aveseh M, Nikoie R, Aminaie M. Exercise-induced changes in tumour LDH-B and MCT1 expression are modulated by oestrogen-related receptor alpha in breast cancer bearing BALB/c mice. *J Physiol* 2015; 593(12): 2635-48.
22. Zavvari F, Karimzadeh F. A methodological review of development and assessment of behavioral models of depression in rats. *Shefaye Khatam* 2016, 3(4): 151-160.
23. Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology(Berl)* 2005; 177(3): 245-55.

24. Kondo M, Shimada S. Serotonin and exercise-induced brain plasticity. *Neurotransmitter* 2014; 2: e793.
25. Nabkasorn C, Miyai N, Sootmongkol A, Junprasert S, Yamamoto H, Arita M, et al. Effects of physical exercise on depression, neuroendocrine stress hormones and physiological fitness in adolescent females with depressive symptoms. *Eur J Public Health* 2006; 16(2): 179-84.
26. Nishii A, Amemiya S, Kubota N, Nishijima T, Kita I. Adaptive changes in the sensitivity of the dorsal raphe and hypothalamic paraventricular nuclei to acute exercise, and hippocampal neurogenesis may contribute to the antidepressant effect of regular treadmill running in rats. *Front Behavior Neuroscience* 2017; 11: 235.
27. Sturgeon K, Digiovanni L, Good J, Salvatore D, Fenderson D, Domchek S, et al. Exercise-induced dose-response alterations in adiponectin and leptin levels are dependent on body fat changes in women at risk for breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention* 2016; 25(8): 200-1195.
28. Leopoldo M, Lacivita E, Berardi F, Perrone R, Hedlund PB. Serotonin 5-HT7 receptor agents: structure-activity relationships and potential therapeutic applications in central nervous system disorders. *Pharmacology and Therapeutics* 2011; 129(2): 48-120.
29. Stroth N, Svenningsson P. S100B interacts with the serotonin 5-HT7 receptor to regulate a depressive-like behavior. *European Neuropsychopharmacology* 2015; 25(12): 2372-80.
30. Rojas PS, Neira D, Muñoz M, Lavandero S, Fiedler JL. Serotonin (5-HT) regulates neurite outgrowth through 5-HT1A and 5-HT7 receptors in cultured hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience Research* 2014; 92(8): 1000-9.
31. Li Y, Wang F, Pan Y, Qiang L, Cheng G, Zhang W, Kong L. Antidepressant-like effects of curcumin on serotonergic receptor-coupled AC-cAMP pathway in chronic unpredictable mild stress of rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33: 435-49.

The Effect of Six Weeks of Aerobic Training on Serotonin and Serotonin Receptors Levels in Hippocampus of Depression Female BALB/c Mice with Breast Cancer

Izadpanah SH¹, Kordi MR^{2*}, Nouri R^{1,2}

¹Department of Exercise Physiology, Kish International Campus, University of Tehran, Kish, ²Department of Exercise Physiology, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 18 Nov 2018

Accepted: 14 May 2019

Abstract

Background & aim: Breast cancer is the most common type of cancer. On the other hand, the incidence of breast cancer in Iranian women is at least one decade lower than that of women in developed countries. The role of physical activity in the recovery of all types of cancer has been considered. The aim of this study was to determine the effect of six weeks of aerobic training on serotonin and its receptors in the hippocampus of depressed mice with breast cancer.

Methods: In the present experimental study, thirty mice were randomly divided into healthy control, cancer control, and exercise cancer groups. Breast cancer tumors were induced by MC4-L2 cell infusion. Aerobic exercise group were performed treadmill exercise (5 times/week for 6 weeks with duration and intensity of 55min/d and 20m/min respectively in the final weeks). For investigation the depression in this study we used force swim test (FST) before and after training. Forty eight hours after the last exercise session hippocampus tissue samples were obtained. Concentrations of serotonin (pg/ml), 5 HT3R and 5 HT7R were measured by Elisa and RT PCR methods respectively. The data were analyzed using Kolmogorov-Smirnov tests, two-way ANOVA, Bonferroni post hoc analysis.

Results: Statistical analysis indicated significant increase of serotonin levels in exercise cancer group ($P=0.001$). The mean 5 HT3R and 5 HT7R level of the cancer groups were not significant than that of the healthy control group ($p=0.689$) and exercise cancer group ($p=0.415$). The amount of immobility time was significantly lower in the exercise cancer group compared to that in the cancer control group ($P=0.001$).

Conclusion: In conclusion, breast cancer may lead to reduction of serotonin levels in the hippocampus and increase depression. Furthermore, six weeks of aerobic exercise could increase serotonin level in the hippocampus of the breast cancer mice but were not significant on 5HT3 and 5HT7 receptors. Six weeks of aerobic exercise may decrease depression. More studies are suggested.

Keywords: Aerobic Training, Breast cancer, Serotonin, 5-HT3R, 5-HT7R, Depression

*Corresponding Author: Kordi MR, Department of Exercise Physiology, University of Tehran, Tehran, Iran
Email: mrkordi@ut.ac.ir.com

Please cite this article as follows:

Izadpanah SH, Kordi MR, Nouri R. The Effect of Six Weeks of Aerobic Training on Serotonin and Serotonin Receptors Levels in Hippocampus of Depression Female BALB/c Mice with Breast Cancer. *Armaghane-danesh* 2019; 24(3)(1): 434-445