

اثر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان mir-155 و بیان ژن SOCS₁ در تومور موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان

عبدالرضا کاظمی: دانشکده علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، استادیار فیزیولوژی ورزش
حمید آقا علی نژاد*: دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، دانشیار فیزیولوژی ورزش
شعبان علیزاده: دانشکده پیرا پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، تهران، استادیار هماتولوژی
شیرین شهبازی: دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، استادیار ژنتیک پزشکی
صادق امانی شلمزاری: دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش
رضا مهدیان: استادیار، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، انستیتو پاستور ایران، تهران

چکیده

مقدمه: تمرینات ورزشی نقش مهمی در پیشگیری و کمک به درمان سرطان پستان ایفا می‌کند. هدف پژوهش حاضر بررسی اثرات کمک درمانی تمرینات ورزشی بر بیان ریز RNA-155 و ژن سرکوب‌گر پیام‌رسان سایتوکاینی-1 (SOCS₁) در تومور موش مبتلا به سرطان پستان وابسته به گیرنده استروژن بود.

روش‌بررسی: ۱۶ موش بальسی ماده در ۲ گروه، تومور- ورزش (ET) و تومور-استراحت (RT) به طور تصادفی قرار گرفتند. پس از آشناسازی، یک میلیون سرطانی وابسته به استروژن (MC4-L2) به هر موش تزریق شد. سپس، گروه ET به مدت ۶ هفته (۵ روز در هفته) تمرینات استقامتی را انجام دادند. حجم تومور به صورت هفتگی با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. در پایان موش‌ها قربانی شدند، بافت تومور استخراج و فریز شد و در دمای -۷۰ درجه سلسیوس نگهداری شد. استخراج RNA و ساخت cDNA به ترتیب با استفاده از پروتکل ترایزول و مطابق دستورالعمل کیت ساخت cDNA انجام شد. در نهایت روش Real time – PCR انجام و نتایج جمع‌آوری شد.

یافته‌ها: اختلاف معناداری در بیان mir155 و بیان ژن SOCS₁ در گروه‌های ET و RT مشاهده شد ($P<0/05$). این نتایج با میزان رشد تومور هم‌خوانی داشت.

نتیجه‌گیری: تمرینات ورزشی به ترتیب موجب کاهش و افزایش بیان mir155 و بیان ژن SOCS₁ بافت تومور می‌شود. با توجه به افت بیان mir155 و افزایش بیان ژن SOCS₁ در گروه ET، می‌توان ادعا کرد تمرین استقامتی از طریق افزایش بیان ژن‌های ضدتوموری و کاهش بیان آنکوژن‌ها نقش کمک درمانی در سرطان پستان دارد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان وابسته به گیرنده استروژن، تمرینات استقامتی، mir155 و SOCS₁.

* نشانی نویسنده پاسخگو: تهران، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، حمید آقاعلی نژاد.
نشانی الکترونیک: halinejad@modares.ac.ir

مقدمه

سرطان پستان یکی از مشکلات مهم سلامتی زنان ایرانی است. تقریباً از هر ۱۰ زن ایرانی یک نفر احتمال ابتلا به این بیماری را دارد (۱). سرطان پستان چندین زیر نوع مولکولی اصلی دارد که در یک تقسیم‌بندی آنها را به سرطان‌های وابسته و غیر وابسته به گیرنده استروژن طبقه‌بندی می‌نمایند. اکثر سرطان‌های پستان تومورهای اپی‌تلیالی هستند که از سلول‌های استر مجراها یا لوبول-های پستان ناشی می‌شوند و اصطلاحاً گیرنده آلفای استروژن (ERα) مثبت نامیده می‌شوند (۲).

ارتباطی بدیهی میان سرطان و التهاب وجود دارد. بیش از ۲۵ درصد کل سرطان‌ها نتیجه عفونت مزمن و سایر انواع التهاب مزمن هستند (۳). داده‌های اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد ارتباط بسیار قوی میان التهاب مزمن و پیشرفت سرطان وجود دارد. همچنین، التهاب می‌تواند بیان آنکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر تومور (مانند ژن‌های هدف‌گذار پروتئینی و ژن‌های ریز RNA آنکوژنیک) را به منظور ارتقای دگرگونی نوپلاستیک تغییر دهد (۴).

ریزRNAها مولکول‌های تنظیمی کوچکی هستند که نقش مهمی در فرایندهای بیولوژیکی گوناگون مانند تکثیر، مرگ سلولی، تمایز و سوخت و ساز دارند (۶ و ۵). به تازگی کشف شده است که ریزRNAها (گروهی از مولکول‌های تنظیم کننده) نقش مهمی در سرطان و التهاب دارند (۷) و ممکن است میانجی سرطان‌زایی^۱ القا شده به وسیله التهاب باشند (۷). در سرطان، ریزRNAها به عنوان آنکوژن یا سرکوبگر تومور عمل می‌کنند (۹). ریزRNAهایی که سبب تسریع رشد تومور شده و آنتی‌تومورها را مهار می‌کنند به عنوان آنکوگیر شناخته شده‌اند. شرایط التهابی به تغییر سطح بیان ریزRNA منجر شده و گمان می‌رود این تغییر در التهاب نقش داشته باشد (۷). در میان ریزRNAها، mir-155 در سرطان پستان افزایش می‌یابد (۸ و ۷). بنابراین این ریزRNA به عنوان آنکوگیر-۱۵۵/۱ در نظر گرفته می‌شود. سرکوب‌گرهای تومور موجب کاهش بیان آنکوگیر-۱۵۵ می‌شوند (۹). سرکوبگر پیام‌رسان سایتوکاینی-۱^۲ (SOCS₁) یکی از سرکوبگرهای تومور است که اثرات متقابلی با آنکوگیر-۱۵۵

دارد (۸). علاوه بر این نشان داده شده است که عوامل التهابی از قبیل اینترلوکین-۶ (IL-6) سبب افزایش بیان آنکوگیر-۱۵۵ در سرطان پستان می‌شوند (۱۰). بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته SOCS₁ در بسیاری از نمونه‌های توموری انسان کاهش می‌یابد (۱۱). در سلول‌های سرطانی پستان اثرات آنکوژنی آنکوگیر-۱۵۵ با خاموش کردن بیان SOCS₁ افزایش می‌یابد، در عوض تجدید بیان SOCS₁ فعالیت تومورزنی آن را، کاهش می‌دهد (۸ و ۷).

مطالعات نشان داده‌اند که غلظت IL-6 در سرطان پستان افزایش می‌یابد (۱۳ و ۱۲) و از آن جا که افزایش غلظت سرمی آن در بیماران سرطان پستان که دچار متاستاز هستند مشاهده شده است از آن به عنوان یک نشان‌گر تشخیص سرطان استفاده می‌شود (۱۴). همان‌گونه که در بالا ذکر شده در سرطان پستان، IL-6 سبب افزایش بیان آنکوگیر-۱۵۵ نیز می‌شود.

برخی مطالعات اثرات مثبت تمرین ورزشی در بهبود سرطان پستان را نشان دادند (۱۷-۱۵). با اصلاح سبک زندگی افزایش خطر بروز سرطان کاهش و همچنین وضعیت بیماران مبتلا بهبود می‌یابد. عوامل مختلفی از جمله فعالیت ورزشی منظم منجر به کاهش خطر بروز سرطان می‌شود. علاوه بر این، میان سبک زندگی و توسعه سرطان پستان، پروستات، مغز و کولون رابطه عکس وجود دارد (۱۹ و ۱۸). سبک زندگی فعال می‌تواند خطر پیشرفت سرطان پستان را کاهش دهد. مطالعات نشان می‌دهند زنان فعال ۲۰ تا ۳۰ درصد کمتر از زنان غیرفعال به سرطان پستان مبتلا می‌شوند (۱۷). اگر چه سازوکارهای زیادی برای توضیح این کاهش وجود دارد اما شواهد کمی برای اثبات هر کدام وجود دارد (۱۶). اثر متقابل تغییرات بیان ژن عوامل ضدتوموری و آنکوژن‌ها با فعالیت ورزشی که در سرطان پستان نقش دارند، به خوبی مشخص نشده است. مطالعات جدید اثرات مفید دویدن روی تردمیل با شدت متوسط بر جلوگیری از پیشرفت تومور را نشان دادند (۱۶). فعالیت بدنی وضعیت زنان مبتلا به سرطان را کاهش می‌دهد اما سازوکارهای درگیر در مدل‌های حیوانی و انسانی به طور کامل شناخته نشده‌اند (۱۵). جونفر و همکاران (۲۰۰۹) اظهار داشتند که فعالیت ورزشی خطر

¹. carcinogenesis

². Suppressor of cytokine signaling

سلول‌های سرطانی، سلول‌ها در محیط DMEM کشت داده شدند. سپس موش‌ها به دو گروه ۸ تایی تقسیم شدند. یک گروه به زندگی معمولی خود در قفس ادامه داند (گروه کنترل یا RT) و گروه دیگر پس از پیدایش تومور پروتکل تمرین استقامتی ارایه شده در جدول ۱ را انجام دادند (گروه تمرین یا ET). در طی اجرای پروتکل حجم تومور با استفاده از کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد. در پایان اجرای پروتکل ورزشی تمامی موش‌ها (گروه ET و گروه RT) قربانی شدند و بلافاصله بافت تومور استخراج و در دمای ۷۰- نگهداری شد. میزان پروتئین IL-6 به روش الایزا و تغییرات بیان mir-155 و بیان ژن SOCS₁ پس از استخراج RNA و ساخت cDNA با استفاده از روش real time اندازه‌گیری شد.

جدول ۱: پروتکل تمرین ورزشی استقامتی بر روی نوار گردان

دوره تمرین	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)	تکرار (روز در هفته)
مرحله آشنا سازی	۱۰-۶	۲۰	۵
تزریق سلول سرطانی MC4-L2			
دو هفته اول	۱۴	۲۵	۵
دو هفته دوم	۱۶	۳۰	۵
دو هفته سوم	۱۸	۳۰	۵

کشت سلول: سلول سرطانی کارسینومای مجاری پستان گیرنده استروژن مثبت (ER+) MC4-L2 برای اولین به وسیله تیم تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرس از محققان دانشگاه بوینس آیرس آرژانتین خریداری شد. سلول‌های MC4-L2 در فلاسک T75 در محیط DMEM با ۱۵ میلی‌مول بافر HEPES، گلوتامین، پنی‌سلین ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، استراپتومایسن ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۱۰٪ FBS کشت داده شدند. پس از پرکردن ۹۰٪ سطح فلاسک بوسیله سلول‌ها، مایع رویی برداشت شده و پس از شستشو با PBS، در مرحله بعد با آنزیم تریپسین ۰.۲۵٪ از کف پلیت سلول‌ها جدا شده و پس از خنثی‌سازی آنزیم با محیط حاوی ۱۰٪ FBS، کلیه محتویات فلاسک را داخل لوله فالكون ریخته و آن را در دور ۱۲۰۰ به مدت ۳-۵ دقیقه سانتریفیوژ کرده، در

سرطان پستان را متاثر می‌کند اما سازوکارهای درگیر به خوبی شناخته نشده‌اند (۱۵). سازوکار اثر تمرین و فعالیت بدنی در کاهش التهاب، احتمالاً کاهش رهاش سایتوکاین‌ها از قبیل IL-6 در پاسخ به انقباض عضلانی منظم است (۲۰) با وجود این، اثرات تمرین ورزشی بر التهاب محدود است و نتایج حداقل در زمینه سرطان قاطع نیست. بنابراین، مطالعات بیش‌تری به منظور توصیف و مشخص شدن اثرات تمرین ورزشی بر التهاب سیستمیک درجه پایین در سرطان مورد نیاز است.

بیشتر پژوهش‌ها در زمینه ورزش و سرطان اثرات ورزش بر کیفیت زندگی، قدرت و استقامت عضلانی و شاخص‌های عملکردی بیماران مبتلا به سرطان را بررسی کردند و مطالعات انگشت شماری به سازوکارهای سلولی مولکولی و نحوه اثرات ورزش بر مسیرهای سیگنالی موثر بر رشد تومور انجام شده است. علاوه بر این، به تازگی نقش ریز RNA به عنوان مولکول‌های تنظیم کننده در پیشرفت و یا پسرقت تومور شناخته شده است اما اثرات ورزش بر آنها در تومور به درستی مشخص نیست. مطالعه حاضر از مطالعات انگشت شمار در این زمینه بوده و اولین پژوهشی است که اثرات ورزش بر Mir-155 و اهداف بالادستی و پایین دستی آن را مورد بررسی قرار می‌دهد.

با توجه به وجود ارتباط بدیهی میان سرطان و التهاب، تأثیر التهاب مزمن و عوامل التهابی همانند IL-6 بر افزایش بیان آنکومیر-۱۵۵ در سرطان و تأثیر این دو فاکتور بر سیگنالینگ JAK/STAT/SOCS₁ این سؤال در ذهن محقق ایجاد شد که آیا فعالیت ورزشی که منجر به کاهش التهاب سیستمیک می‌شود، بر میزان پروتئین IL-6 و بیان آنکومیر-۱۵۵ و بیان ژن SOCS₁ در تومور موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان تأثیر دارد یا خیر؟

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی بوده که به شیوه میدانی و آزمایشگاهی انجام شد. بدین منظور ۱۶ موش ماده بآلب‌سی ۳ تا ۵ هفته با وزن ۱۴-۱۵ گرم از انیستیتو پاستور خریداری و به حیوان خانه دانشگاه تربیت مدرس منتقل شد. پس از یک هفته آشناسازی با محیط یک میلیون سلول MC4-L2 به هر موش تزریق و موش‌ها سرطانی شدند. به منظور دستیابی به مقدار مورد نظر از

مقطر دیونیزه حل و پس از تنظیم pH (۷/۴ - ۷/۲) با سود یا اسید کلریدریک ۱ نرمال، محلول به حجم یک لیتر رسانده شد. تعیین میزان IL-6 با روش آزمایشگاهی الایزا بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد. برای اندازه‌گیری IL-6 از کیت الایزای ab100713 ساخت شرکت abcam استفاده شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA: مراحل استخراج RNA بر اساس پروتکل ترايزول به صورت دقیق اجرا شد (۳۰)، با این تفاوت که برای استخراج mir-155 پس از اضافه نمودن ایزوپروپانول، سوپرناتانت به مدت یک شبانه روز در دمای ۲۰- نگهداری شد و سپس مراحل بعدی استخراج به ترتیب انجام گرفت (۳۱). برای سنتز cDNA ژن SOCS₁ از کیت شرکت کیاژن ۲۰۵۳۱۱ و برای ساخت cDNA mir-155 از کیت استراتازن ۶۰۰۵۸۳ Cat NO: استفاده گردید. مراحل سنتز cDNA مطابق با پروتکل کیت‌ها صورت گرفت.

Real time – PCR: در ابتدای کار میزان غلظت بهینه cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هر کدام به طور جداگانه مشخص شد. برنامه real time- PCR بر روی دستگاه کوربت برای ژن SOCS₁ شامل: ۹۵° به مدت ۱۰ دقیقه و ۴۰ سیکل - ۹۵° به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰° به مدت ۱ دقیقه (۳۱) و برای mir-155 شامل ۹۵° به مدت ۱۰ دقیقه و ۴۵ سیکل - ۹۵° به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۰° به مدت ۱۵ ثانیه و ۷۲° به مدت ۲۰ ثانیه بود (۳۱). از GAPDH و U6 به عنوان ژن کنترل به ترتیب برای SOCS₁ و mir-155 استفاده شد. پرایمرهای طراحی شده و مورد استفاده در جدول ۲ آمده است.

مرحله بعد مایع رویی را برداشته و پلاک سلولی در داخل محیط حاوی FBS ۱۰٪ حل شد. سپس برای تعیین زنده مانده و شمارش سلولی به ترتیب از تریپان‌بلو و لام هماسیتومتر استفاده شد (۳۱).

به منظور تزریق سلول‌ها برای ایجاد تومور سوسپانسیون سلولی با تراکم ۱۰ میلیون در هر میلی‌لیتر بافر PBS تهیه گردید. سپس به هر موش بالبسی ماده، یک میلیون سلول به صورت زیر جلدی به ناحیه بالای ران سمت راست تزریق گردید.

اندازه‌گیری حجم تومور: برای تعیین حجم تومور طول تومور به عنوان بزرگترین بعد تومور و عرض آن به عنوان بعد دیگر اندازه‌گیری شد. طول و عرض تومور هفته‌ای یک‌بار توسط کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول محاسباتی حجم تومور میزان آن تعیین شد
$$\{V=1/2(L^2 \times W)\}$$

$$\text{حجم تومور} = W \times \text{عرض}$$

$$L = \text{طول تومور}$$
 (۲۱). برای دستیابی به داده خام مورد نظر عدد محاسباتی هفته آخر بر هفته اول تقسیم شد.

اندازه‌گیری IL-6: به منظور اندازه‌گیری سطوح IL-6، پس از قربانی نمودن موش‌ها، بلافاصله بافت تومور برداشته شد و در نیتروژن مایع فریز و در دمای ۷۰- نگهداری شد. میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تومور در ظرف هموژنایزر حاوی محلول لیزات قرار داده شدند تا بافت کاملاً خرد شده و سپس سوسپانسیون رویی در میکروتیوب جدید منتقل شد و با سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه، ۱۵۰۰ گرم و ۴ درجه سلسیوس) قطعات بزرگ رسوب کردند و از سوپرناتانت رویی برای اندازه‌گیری IL-6 به روش برادفورد استفاده گردید. محلول لیزات حاوی NaCl، KCl، Na₂HPO₄، PMSF بود که در ۹۵۰ میلی‌لیتر آب

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای mir-155 و ژن SOCS₁ در Real time

	آغاز گر جلویی	آغاز گر برگشتی	NCBI
Mir155	UUAAUGC UAAUUGUGAUAGGGG U		NR-029738
U6	GCGCGTCGTGAAGCGTTC	GTGCAGGGTCCGAGGT	NR-003027
SOCS1	GCTGTGCCGCAGCATTAAG	CCAGAAGTGGGAGGCATCT C	NM- 001271603
GAPD H	TCAACAGCAACTCCCACTCTTCC	ACCCTGTTGCTGTAGCCGTA TTC	NM-008084

بیان ژن‌ها بدست آمد. سپس اعداد به دست آمده به نرم افزار SPSS منتقل و با استفاده از آزمون T مستقل دو گروه با هم مقایسه شدند. داده‌ها کاهش معنی‌دار بیان ژن miR-155 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ($P=0/01$). میزان بیان miR-155 در گروه کنترل نسبت به گروه تمرین بیشتر است. همچنین، افزایش معنی‌دار در بیان ژن SOCS₁ ($P=0/003$) گروه تمرین نسبت به کنترل مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۳: میزان پروتئین IL-6 و حجم تومور در گروه تمرین و گروه کنترل (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

متغیرها	گروه‌های پژوهش	ورزش-تومور	استراحت-تومور
IL-6 (پیکوگرم در دسی‌لیتر)		۷۵.۱ $\pm$ ۳۸.۵	۱۹۵.۸ $\pm$ ۵۹.۷
حجم تومور (سانتی‌متر مکعب)	هفته اول	۰/۰۵۲ $\pm$ ۰/۰۰۱	۰/۰۵۴ $\pm$ ۰/۰۱۲
	هفته ششم	۰/۲۴ $\pm$ ۰/۰۱۴	۰/۴۱۶ $\pm$ ۰/۱۱
	هفته ششم	۴/۵۷ $\pm$ ۰/۲۴	۷/۵۷ $\pm$ ۱/۶۷
	بر هفته اول		

جدول ۴: نتایج آزمون T مستقل برای مقایسه متغیرها در گروه ET و RT

متغیر		مقدار معنی‌داری
Mir-155	۸/۸۵	۰/۰۱
ژن SOCS ₁	۵/۴	۰/۰۰۳
پروتئین IL-6	۸/۱۶	۰/۰۰۱
شاخص حجم تومور	۲۶/۲	۰/۰۰۰۱

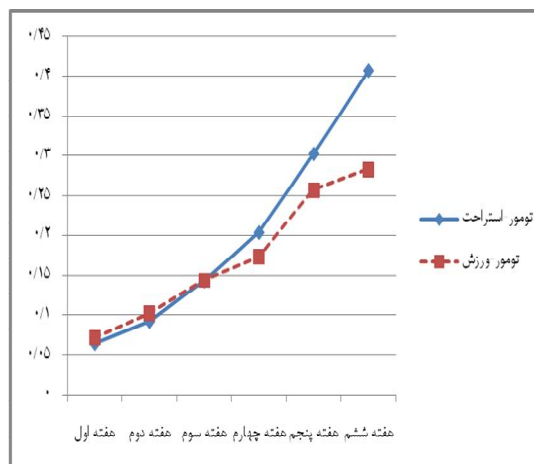
بحث و نتیجه‌گیری

داده‌های پژوهش حاضر کاهش حجم تومور با انجام تمرینات استقامتی منظم نسبت به گروه کنترل را نشان دادند. سازوکارهای اثرات مثبت تمرینات ورزشی بر کاهش حجم تومور چند وجهی و نامشخص است. تمرینات استقامتی موجب کاهش وضعیت التهابی (IL-6) و تعدیل در بیان ژن‌ها و آنکومیرها می‌شود. کاهش در بیان آنکومیر-۱۵۵ و افزایش ژن هدفش (SOCS₁) در پژوهش حاضر مشاهده شد. بنابراین، کاهش در بیان ژن‌های مسیر سیگنالینگ رشد سلول‌های سرطانی با تمرینات استقامتی

آنالیز آماری: برای انجام تجزیه و تحلیل از نرم‌افزار SPSS-19 جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. جهت تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون آماری T مستقل و برای تعیین سطح بیان ژن‌ها از نرم افزار Excel و فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد و سپس داده‌های بدست آمده به نرم افزار SPSS منتقل شدند (در سطح $\alpha=0/05$).

یافته‌ها

در نمودار شماره ۱ روند تغییرات حجم تومور در ۶ هفته اجرای پروتکل تحقیق ترسیم شده است. میزان نهایی و روند رشد در گروه کنترل بالاتر از گروه تمرین بود. با تقسیم نمودن حجم تومور هفته ششم بر هفته اول نسبت رشد تومور به دست آمد. نتایج آزمون t مستقل برای این نسبت نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود دارد ($P=0/0001$) (جدول ۳ و ۴). مقدار میانگین این نسبت برای گروه تومور-تمرین برابر با $4/15 \pm 0/46$ و برای گروه تومور-استراحت برابر با $7/22 \pm 1/74$ است. نتایج بدست آمده از تکنیک کمی Real-Time PCR (همان تعداد سیکل‌ها (CT) با استفاده از نرم افزار Excel و فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و میزان



نمودار ۱: تغییرات حجم تومور بین دو گروه

شیب رشد تومور در گروه ET کندتر است، حجم اولیه تومور در گروه RT و گروه ET برابر است اما میزان رشد نهایی در گروه ET کمتر شده است. علاوه بر این شاخص رشد تومور در گروه ET نسبت به گروه RT کمتر است ($P=0/0001$). (واحد حجم تومور سانتی‌متر مکعب (cm^3)).

را به عنوان یکی از سازوکارهای موثر تمرینات ورزشی در کمک به درمان سرطان پستان وابسته به گیرنده استروژن، پیشنهاد می‌کنیم.

پژوهش‌های اخیر، کاهش حجم تومور با تمرینات ورزشی را گزارش کرده‌اند اما سازوکار آن را به طور دقیق تبیین نکرده‌اند. مورفی و همکاران (۲۰۱۱) پس از ۲۰ هفته تمرینات استقامتی، کاهش حجم تومور در گروه تمرین را نسبت به گروه کنترل گزارش کردند و حتی کاهش رگرسیون از هفته هفدهم تمرین تا هفته بیستم را گزارش کردند. آنها افت عوامل التهابی مانند IL-6 و MCP-1 با تمرینات استقامتی را در علت کاهش حجم تومور دانستند. زیلینسکی و همکاران (۲۰۰۴) نیز کاهش حجم تومور پس از ۶ هفته تمرین استقامتی را به کاهش چگالی و تراکم سلولی‌های ایمنی درون سلول نسبت دادند. با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته به نظر سازوکارهای اثرات مثبت تمرینات ورزشی پیچیده و چند فاکتوری می‌باشد. در پژوهش حاضر نیز کاهش حجم تومور و اختلاف معنی‌دار بین میزان رشد تومور ($P=0/0001$) را مشاهده شد. سازوکار احتمالی این تفاوت و آن را به تعدیل وضعیت التهابی و تعدیل ژنی است. زیرا کاهش پروتئین IL-6 و کاهش بیان mir155 و افزایش بیان ژن SOCS1 در نتیجه تمرینات استقامتی مشاهده شد.

عوامل التهابی در رشد تومور نقش دارند و به نظر می‌رسد کاهش این عوامل از سازوکاری موثر تمرینات ورزشی باشد (۲۲). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که ورزش سبب کاهش التهاب سیستمیک می‌شود (۲۳ و ۲۴). همچنین التهاب مزمن می‌تواند در شکل‌گیری انواع بیماری التهابی و از جمله سرطان پستان نقش مهمی داشته باشد (۲۵) ژن سرکوب کننده پیام‌رسان سایتوکاینی-۱ یا SOCS1، اخیراً به عنوان یکی از اهداف آنکو-میر-۱۵۵ شناخته شده است، بیان آنکو-میر-۱۵۵ در نتیجه افزایش التهاب در سرطان، افزایش می‌یابد (۷ و ۲۶). مطالعات بیش‌تنظیمی mir-155 در انواع مختلف سرطان مانند سرطان پستان را نشان دادند (۸ و ۹). آنکو-میر-۱۵۵ در شرایط التهابی تحریک می‌شود (۸). احتمالاً بیان این آنکو-میر به وسیله سایتوکاین‌های التهابی مانند IL-6 و اینترفرون گاما افزایش می‌یابد. همان‌گونه که ذکر شد آنکو-میر-۱۵۵ پل میان التهاب و سرطان بوده و به صورت پس ترجمه‌ای

SOCS1 را تنظیم می‌کند (۷ و ۲۷). در سلول‌های سرطانی پستان اثرات آنکوژنی آنکو-میر-۱۵۵ با خاموش کردن بیان SOCS1 افزایش می‌یابد، در حالی که افزایش بیان ژن SOCS1 فعالیت تومورزایی آنکو-میر-۱۵۵ را، کاهش می‌دهد. بنابراین ارتباطی معکوس میان این دو در سرطان پستان وجود دارد (۷ و ۲۸) و مهار SOCS1 توسط آنکو-میر-۱۵۵ سازوکاری مهم در ایجاد تومور است. از طرف دیگر افزایش IL-6 سبب افزایش آنکو-میر-۱۵۵ خواهد شد (۷ و ۲۸). مطالعات مختلف از نقش مثبت تمرینات ورزشی در پسرقت تومور و مهار رشد آن و کاهش حجم تومور حمایت کردند اما سازوکار دقیق آن به درستی مشخص نیست (۱۸-۱۰).

مورفی و همکاران (۲۰۱۱) افت حجم تومور را به کاهش التهاب سیستمی نسبت دادند (۲۲). علاوه بر این نشان داده شده است که تمرینات ورزشی کارسینوژن را کاهش داده و موجب تقلیل التهاب وابسته به سرطان و سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌شود. با این حال هنوز نقش تمرینات ورزشی در کاهش التهاب تومور مشخص نشده است (۲۹). یکی از مسیرهای سیگنالی رشد تومور به تولید زیاد IL-6 و تحریک تولید آنکو-میر-۱۵۵ و متعاقباً کاهش بیان ژن SOCS1 می‌باشد. به نظر می‌رسد ورزش از طریق تعدیل وضعیت التهابی درون تومور یعنی کاهش سطوح IL-6 این مسیر سیگنالی را تعدیل می‌کند. احتمالاً سرکوب مسیر سیگنالی IL-6 $\leftrightarrow$ mir-155 $\leftrightarrow$ SOCS1 به وسیله تمرینات ورزشی یکی از سازوکارهای کاهش حجم تومور و پسرقت تومور است. به گونه‌ای که تمرین استقامتی منجر به کاهش IL-6 توموری به عنوان عامل التهابی شده و متعاقباً این به کاهش بیان آنکو-میر-۱۵۵ منجر می‌شود. کاهش آنکو-میر-۱۵۵ نیز ممکن است به افزایش بیان ژن SOCS1، به عنوان سرکوبگر تومور شناخته شده است، منجر شود.

در مجموع داده‌های این پژوهش پیشنهاد می‌کنند تمرینات استقامتی تداومی با شدت متوسط نقش موثری در کاهش بیان آنکو-میر-۱۵۵ و سطوح سایتوکاین‌های التهابی IL-6 در تومور پستان موش دارد. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد بیان ژن SOCS1 که سرکوبگر تومور است در تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان که تمرینات استقامتی انجام دادند افزایش می‌یابد. این

پیشنهاد و ادعا می‌کنیم در تومور پستان موش ورزش احتمالاً نقش کمک درمانی از طریق این مسیر ایفا می‌کند.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر بخشی از رساله عبدالرضا کاظمی دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه تربیت مدرس است که با حمایت مالی این دانشگاه اجرا شد.

تغییرات با کاهش حجم تومور و میزان رشد تومور هم راستا است. بنابراین، می‌توان ادعا نمود تمرینات ورزشی نقش کمک درمانی در سرطان پستان وابسته به گیرنده استروژن موش‌های بالبی دارند. همچنین ما مسیر: تمرینات استقامتی ← کاهش التهاب ← کاهش سایتوکاین‌های التهابی (مانند IL-6) ← کاهش بیان آنکومیر-۱۵۵ ← کاهش مهار SOCS₁ (افزایش بیان ژن SOCS₁) ← کاهش تومورژنز و کاهش سرعت رشد تومور به وسیله فعالیت ورزشی استقامتی منظم و مداوم را

References

1. Ebrahimi M, Vahdaninia M, Montazeri A. Risk factors for breast cancer in Iran: a case-control study. *Breast cancer research* 2002; 4(5):R10.
2. Lanari C, Lüthy I, Lamb CA, Fabris V, Pagano E, Helguero LA, et al. Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: in vivo and in vitro effects of estrogens and progestins. *Cancer research* 2001; 61(1): 293-302.
3. Perwez Hussain S, Harris CC. Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. *International journal of cancer* 2007; n121(11):n2373-80.
4. Schetter AJ, Heegaard NH, Harris CC. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis* 2010; 31(1):37-49.
5. Abba M, Allgayer H. MicroRNAs as regulatory molecules in cancer: a focus on models defining miRNA functions. *Drug Discovery Today: Disease Models* 2009; 6(1):13-9.
6. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nature Reviews Genetics* 2008; 9(2):102-14.
7. Jiang S, Zhang H-W, Lu M-H, He X-H, Li Y, Gu H, et al. MicroRNA-155 functions as an OncomiR in breast cancer by targeting the suppressor of cytokine signaling 1 gene. *Cancer research* 2010; 70(8): 3119-27.
8. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nature Reviews Cancer* 2006; 6(11): 857-66.
9. Garofalo M, Condorelli G, Croce C, Condorelli G. MicroRNAs as regulators of death receptors signaling. *Cell Death & Differentiation* 2009; 17(2): 200-8.
10. Subedi A, Park P-H. Autocrine and paracrine modulation of microRNA-155 expression by globular adiponectin in RAW 264.7 macrophages: Involvement of MAPK/NF-κB pathway. *Cytokine* 2013; 64(3): 638-41.
11. Calabrese V, Mallette FA, Deschênes-Simard X, Ramanathan S, Gagnon J, Moores A, et al. SOCS1 links cytokine signaling to p53 and senescence. *Molecular cell* 2009; 36(5): 754-67.
12. Knüpfer H, Preiß R. Significance of interleukin-6 (IL-6) in breast cancer (review). *Breast cancer research and treatment* 2007; 102(2): 129.
13. Sullivan NJ. Interleukin-6 in the Breast Tumor Microenvironment.
14. Nishimura R, Nagao K, Miyayama H, Matsuda M, Baba K, Matsuoka Y, et al. An analysis of serum interleukin-6 levels to predict benefits of medroxyprogesterone acetate in advanced or recurrent breast cancer. *Oncology* 2000; 59(2):166-73.
15. Ligibel JA, Giobbie-Hurder A, Olenczuk D, Campbell N, Salinardi T, Winer EP, et al. Impact of a mixed strength and endurance exercise intervention on levels of adiponectin, high molecular weight adiponectin and leptin in breast

- cancer survivors. *Cancer Causes & Control* 2009; 20(8): 1523-8.
16. Westerlind K, McCarty H, Schultheiss P, Story R, Reed A, Baier M, et al. Moderate exercise training slows mammary tumour growth in adolescent rats. *European journal of cancer prevention* 2003; 12(4): 281-7.
 17. Lee I-M. Physical activity and cancer prevention-data from epidemiologic studies. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 2003; 35(11): 1823-7.
 18. Montaruli A, Patrini P, Roveda E, Carandente F. Physical activity and breast cancer. *Sport Sci Health* 2012; 8(1):1-13.
 19. Courneya KS, Friedenreich CM, editors. *Physical activity and cancer control*. Seminars in oncology nursing 2007.
 20. Woods JA, Vieira VJ, Keylock KT. Exercise, inflammation, and innate immunity. *Immunology and allergy clinics of North America* 2009; 29(2): 381-93.
 21. 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. *Journal of Applied Physiology* 2010; 108(2): 343-8.
 22. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux T, McClellan J, Steiner J, Carmichael M, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine* 2011; 55(2): 274-9.
 23. Olesen J, Ringholm S, Nielsen MM, Brandt CT, Pedersen JT, Halling JF, et al. Role of PGC-1 α in exercise training-and resveratrol-induced prevention of age-associated inflammation. *Experimental gerontology* 2013 ;48(11):1274-84
 24. Moylan S, Eyre H, Maes M, Baune BT, Jacka F, Berk M. Exercising the worry away: how inflammation, oxidative and nitrogen stress mediates the beneficial effect of physical activity on anxiety disorder symptoms and behaviours. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2013.
 25. Kanterman J, Sade- Feldman M, Baniyash M, editors. *New insights into chronic inflammation- induced immunosuppression*. Seminars in Cancer Biology 2012.
 26. Corcoran C, Friel AM, Duffy MJ, Crown J, O'Driscoll L. Intracellular and extracellular microRNAs in breast cancer. *Clinical chemistry* 2011; 57(1): 18-32.
 27. Lu L-F, Thai T-H, Calado DP, Chaudhry A, Kubo M, Tanaka K, et al. Foxp3-dependent micro RNA155 confers competitive fitness to regulatory T cells by targeting SOCS1 protein. *Immunity* 2009; 30(1): 80-91.
 28. Lee TL, Yeh J, Van Waes C, Chen Z. Epigenetic modification of SOCS-1 differentially regulates STAT3 activation in response to interleukin-6 receptor and epidermal growth factor receptor signaling through JAK and/or MEK in head and neck squamous cell carcinomas. *Molecular cancer therapeutics* 2006; 5(1): 8-19.
 29. Suzuki R, Iwasaki M, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, et al. Leisure-time physical activity and breast cancer risk by hormone receptor status: effective life periods and exercise intensity. *Cancer Causes & Control* 2010; 21(11): 1787-98.
 30. Enoki T, Yoshida Y, Lally J, Hatta H, Bonen A. Testosterone increases lactate transport, monocarboxylate transporter (MCT) 1 and MCT4 in rat skeletal muscle. *J Physiol* 2006; 577 (1): 433-43.
 31. Kouhkan F, Alizadeh S, Kaviani S, Soleimani M, Pourfathollah AA, et al. miR-155 Down Regulation by LNA Inhibitor can Reduce Cell Growth and Proliferation in PC12 Cell Line. *Avicenna J Med Biotechnol* 2011; 3(2): 61-6.
 32. Esfandiari N, Kohi-Habibi M, Hohn T, Pooggin M. Complete genome sequence of an Iranian isolate of Potato virus X from the legume plant *Pisum sativum*. *Virus Genes* 2009; 39:141-5.