

Effect of Six Weeks of Endurance Training on Tumor Volume and Muscle Myostatin Levels in Female Mice with Breast Cancer: Implications for Cachexia

Hasani F: M.A student of department of physical education and sport sciences, science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Gholami M: Department of physical education and sport sciences, science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Ghazalian F: Department of physical education and sport sciences, science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Mandana Gholami, m.gholami@srbiau.ac.ir

Abstract

Introduction: Cachexia is one of the main cancer-related complications. Changes in levels of cachexia-related factors such as myostatin play an important role in accelerating or muscle wasting. The aim of present study was to investigate the effect of six weeks of endurance training on myostatin levels in female mice with breast cancer.

Methods: Twenty-four female BALB/c mice, aged 6-8 weeks, were assigned to three groups of 8 mice each: a healthy control, tumor control, and an endurance training + tumor group. The endurance training program was performed for six weeks, five sessions per week, at 14-18 m/min on a rodent treadmill. Forty-eight hours after the last exercise session, gastrocnemius muscle tissue was removed and myostatin levels were determined with ELISA method. Tumor volume was measured with a digital caliper.

Results: Results indicated significant decreases in myostatin levels in the training + tumor group when compared with the tumor control group ($p < 0.001$). However, myostatin levels in the control group were significantly low compared with the tumor control and training + tumor groups ($p < 0.05$). Moreover, significant increases in the gastrocnemius muscle weight ($p = 0.015$) and decreases in tumor volume ($p < 0.001$) were observed in the training + tumor group.

Conclusion: It seems that decreased myostatin levels due to endurance training have an important role in the prevention of muscle wasting. According to our findings, endurance training, in addition to suppressing tumor growth, can be considered an effective strategy for combating muscle loss in cancer patients.

Keywords: Cachexia, Tumor, Myostatin, Endurance Training

تأثیر شش هفته تمرین استقامتی بر حجم تومور و سطوح میوستاتین در بافت عضلانی موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان، با تأکید بر نقش آن در کاشکسی

فاطمه حسینی: دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
ماندانا غلامی*: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
فرشاد غزالیان: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: کاشکسی یکی از عوارض اصلی مرتبط با سرطان است. تغییر در سطوح عوامل مرتبط با کاشکسی از قبیل میوستاتین نقش موثری در تسریع یا کند شدن تحلیل توده عضلانی دارد. هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی بر سطوح میوستاتین در بافت عضلانی موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان است.

روش بررسی: بدین منظور ۲۴ سر موش ماده Balb/c شش تا هشت هفته‌ای در سه گروه ۸ تایی شامل گروه‌های کنترل سالم، کنترل توموری و تمرین استقامتی + تومور قرار گرفتند. برنامه تمرین استقامتی به مدت شش هفته و پنج جلسه در هفته با سرعت ۱۴-۱۸ متر بر دقیقه روی نوارگردان مخصوص جوندگان اجرا شد. ۴۸ ساعت بعد از جلسه آخر تمرین، بافت عضله دوقلو جدا شد و سطوح میوستاتین به روش الیزا در بافت عضلانی اندازه‌گیری شد. حجم تومور نیز با کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج کاهش معنادار سطوح میوستاتین را در بافت عضلانی گروه تمرین+تومور در مقایسه با گروه کنترل توموری نشان داد ($p < 0/001$) و سطوح میوستاتین در گروه کنترل سالم در مقایسه با گروه کنترل توموری و تمرین+تومور به صورت معناداری کمتر بود ($p < 0/05$). همچنین، افزایش معنادار وزن عضله دوقلو ($p = 0/015$) و کاهش حجم تومور ($p < 0/001$) در گروه تمرین+تومور مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که کاهش سطوح میوستاتین بافت عضله بعد از تمرینات استقامتی نقش مهمی در پیشگیری از تحلیل توده عضلانی دارد. بر اساس یافته‌های حاضر، تمرین استقامتی علاوه بر مقابله با رشد تومور، می‌تواند به عنوان یک راهکار موثر برای مقابله با تحلیل عضلانی در نمونه‌های سرطانی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: کاشکسی، تومور، میوستاتین، تمرین استقامتی

* نشانی نویسنده مسئول: تهران، انتهای بزرگراه شهید ستاری، میدان دانشگاه، بلوار شهدای حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم اجتماعی و علوم انسانی، گروه تربیت بدنی، ماندانا غلامی.

نشانی الکترونیک: m.gholami@srbiu.ac.ir

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی زنان در سراسر جهان (۱) و دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در بین زنان است (۲). سرطان علاوه بر تأثیرات مستقیمی که می‌تواند بر اندام‌های مختلف به‌ویژه بافت سرطانی شده داشته باشد، با برخی اختلالات و وضعیت‌های پاتولوژیک ثانویه از جمله کاشکسی همراه است. کاشکسی یکی از پیامدهای مخرب مرتبط با انواع مختلف سرطان از جمله سرطان پستان است که به‌واسطه افزایش میزان متابولیسم و تحلیل رفتن کل بدن مشخص می‌شود (۳). کاشکسی به‌واسطه تحلیل پیش‌رونده عضله اسکلتی (با یا بدون تحلیل توده چربی) مشخص می‌شود و از طریق حمایت‌های تغذیه‌ای مرسوم قابل بازگشت نیست و با اختلال پیش‌رونده در عملکرد همراه است (۴). برآورد شده است که حدود ۸۰٪ بیماران مبتلا به سرطان در طول دوره بیماری‌شان با کاشکسی مواجه خواهند شد (۵) و حدود ۲۰٪ از مرگ و میرهای ناشی از سرطان را به کاشکسی ارتباط داده‌اند (۶).

در وضعیت کاشکسی، کمیت و کیفیت عضله اسکلتی کاهش یافته که منجر به کاهش تدریجی عملکرد جسمانی، فعالیت، مستقل بودن و کیفیت زندگی و در نتیجه عدم تحمل درمان‌های پزشکی (کاهش اثرگذاری شیمی‌درمانی) می‌شود (۷). عوامل و مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی می‌توانند بر وضعیت کاشکسی اثرگذار باشند که یکی از مهم‌ترین آنها به‌واسطه تنظیم افزایشی میوستاتین است (۸).

میوستاتین یکی از اعضای خانواده بزرگ $TGF\beta^1$ است و به عنوان یک تنظیم کننده منفی توسعه توده عضله اسکلتی ایفای نقش می‌کند و هرگونه اختلال در تولید و ترشح میوستاتین تأثیر شدیدی بر تغییرات در توده عضلانی دارد (۹). زیمر^۲ و همکارانش (۲۰۰۲) برای نخستین بار نقش احتمالی میوستاتین را در کاشکسی سرطان گزارش کردند. این محققان نشان دادند که بیش بیانی سیستمیک میوستاتین در موش‌های بالغ، عضلات و بافت چربی را تحت تأثیر قرار داده و اثراتی مشابه با سندرم کاشکسی در انسان را القا می‌کند (۱۰). بر این اساس، میوستاتین به عنوان یک هدف درمانی در

اختلالات مرتبط با تحلیل توده عضلانی مطرح و گزارش شده است که القای آنتی میوستاتین (JA16) در موش‌های جوان و سالم منجر به افزایش قدرت و توده عضلانی، بدون افزایش اندازه ارگان‌های دیگر در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (۱۱).

یکی از راهکارهایی که به منظور مقابله و کمک به درمان انواع مختلف سرطان از جمله سرطان پستان و پیامدهای آن بسیار مورد توجه قرار گرفته است، شرکت در تمرینات ورزشی است. مطالعات صورت گرفته نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی نقش موثری در کاهش روند رشد تومور و مقابله با توموروزن دارد که این تأثیرات مثبت تمرینات ورزشی در مقابله با رشد تومور در نمونه‌های حیوانی را به کاهش عوامل موثر در رگزایی تومور و عوامل التهابی (۱۲) و همچنین کاهش عوامل آنتی‌آپوپتیک و افزایش عوامل آپوپتیک در بافت تومور نسبت داده‌اند (۱۳).

باوجود نبود هیچ درمان قطعی برای کاشکسی (۱۴)، ثابت شده است که فعالیت ورزشی در مقابله با تحلیل توده عضلانی ناشی از افزایش سن یا عدم استفاده از عضلات موثر است و بخش مهمی از مدیریت بالینی کاشکسی را تشکیل می‌دهد (۷). بر اساس مطالعات صورت گرفته، تمرینات قدرتی و حتی استقامتی در صورت برخورداری از شدت، مدت و تکرار جلسات مناسب می‌تواند با افزایش حجم توده عضلانی و هیپرتروفی همراه باشند (۱۵). از این رو، تمرینات ورزشی به عنوان یک روش کارآمد در کنترل و کند کردن روند کاشکسی توصیه شده است. بر این اساس، علاوه بر مداخلات دارویی که برای درمان کاشکسی مورد استفاده قرار می‌گیرند، فعالیت ورزشی به یک عنوان یک استراتژی غیردارویی نویدبخش در پیشگیری از کاشکسی مطرح شده است و با توجه به اینکه در طول کاشکسی، قدرت و استقامتی عضلانی به صورت قابل ملاحظه‌ای کاهش پیدا می‌کند، دلیل اهمیت تمرینات ورزشی در وضعیت کاشکسی کاملاً روشن است (۱۶).

برخی محققان تأثیرات مثبت تمرین ورزشی بر وضعیت کاشکسی را به تنظیم کاهشی میوستاتین در بافت عضلانی موش‌های مبتلا به سرطان کولون نسبت داده‌اند (۱۷). علاوه بر کاشکسی، تمرینات ورزشی بسیاری از اثرات جانبی ناشی از شیمی‌درمانی، رادیوتراپی، جراحی و هورمون درمانی را کاهش می‌دهد (۱۸) و منجر به افزایش کیفیت زندگی در بیماران مبتلا به سرطان پستان شده و

¹ Transforming Growth Factor Beta² Zimmers

خستگی ناشی از سرطان را تقلیل می‌دهد (۱۹). در مجموع علی‌رغم نقش مثبت فعالیت ورزشی در مدیریت سرطان پستان و به‌ویژه در جلوگیری از تحلیل توده عضلانی در نمونه‌های مبتلا به سرطان، تاکنون مسیرهای اثرگذاری مثبت فعالیت ورزشی تا حدود زیادی ناشناخته مانده است و در پژوهش حاضر برای نخستین بار تغییرات در سطوح میوستاتین به عنوان یکی از عوامل اصلی تحریک کننده مسیر کاشکسی، در موش‌های مبتلا به سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تغذیه و نگهداری موش‌های مورد بررسی: پژوهش حاضر از نوع تجربی بود که به شیوه آزمایشگاهی با یک گروه تجربی و دو گروه کنترل به شیوه پس آزمون اجرا شد. به منظور اجرای پژوهش حاضر، تعداد ۲۴ سر موش ماده Balb/c شش تا هشت هفته‌ای با دامنه وزن ۱۷-۱۴ گرم از انستیتوی پاستور تهران خریداری و به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل شدند. در کل دوره پژوهش، چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی برای تطابق فیزیولوژیک موش‌ها رعایت و دمای اتاق بین درجه ۲۶-۲۲ درجه سلسیوس و رطوبت ۴۵٪ ثابت بود و تا انتهای دوره پژوهشی همه موش‌های به صورت آزادانه به آب و غذای استاندارد موش دسترسی داشتند. به منظور آشناسازی با محیط، موش‌ها به مدت یک هفته و بدون هیچ مداخله‌ای در محیط آزمایشگاهی نگهداری شدند. یک هفته بعد از انتقال موش‌ها به آزمایشگاه، سلول‌های سرطانی کشت داده شده به موش‌های گروه کنترل توموری و تمرین استقامتی+تومور تزریق شدند. لازم به ذکر است که تمامی مراحل تمرین و اجرای پژوهش مطابق با دستورالعمل مؤسسه سلامت و تغذیه در مورد مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

کشت و تزریق سلول‌های سرطانی: بعد از تهیه رده سلولی کارسینومای مجاری پستان گیرنده استروژن مثبت MC4-L2 (ER+) از مرکز ذخایر ژنتیک، سلول‌ها در فلاسک T75 در محیط DMEM با ۱۵ میلی‌مول بافر HEPES، گلوتامین، پنی سلین ۱۰۰ µg/ml، استراپتومایسن ۱۰۰ µg/ml و FBS ۱۰٪ کشت داده شدند و این فرآیند تا زمان رسیدن تعداد سلول‌های

سرطانی به میزان مورد نظر ادامه داشت. نهایتاً سوسپانسیون سلولی با تراکم ۱۰ میلیون سلول در هر میلی‌لیتر بافر PBS تهیه و به هر کدام از موش‌های گروه توموری یک میلیون سلول تزریق شد. بدین منظور، موش‌ها در ابتدا با تزریق دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین به صورت درون صفاقی، بی‌هوش و سپس توسط متخصص یک میلیون سلول سرطانی به صورت زیر جلدی به ناحیه بالای ران سمت راست موش‌های گروه کنترل توموری و تمرین+تومور تزریق شد (۲۰). تقریباً دو هفته بعد از تزریق سلول‌های سرطانی، تومور در ناحیه تزریق شده قابل لمس بود. یک هفته بعد از پیدایش تومور، موش‌های توموری به صورت مساوی و تصادفی در دو گروه ۸ تایی شامل گروه کنترل توموری و تمرین استقامتی+تومور تقسیم‌بندی شدند. یک گروه سالم نیز به عنوان گروه کنترل سالم و مشتمل بر ۸ موش در نظر گرفته شد. گروه‌های توموری (کنترل توموری و تمرین+تومور) و گروه کنترل سالم از نظر سن، وزن و همچنین دسترسی آزادانه به آب، غذا و نگهداری شرایط یکسانی داشتند. موش‌ها در گروه‌های کنترل سالم و کنترل توموری در هیچ مداخله‌ای شرکت نداشتند. موش‌ها در گروه تمرین+تومور نیز به مدت شش هفته در برنامه تمرین استقامتی شرکت کردند. **برنامه تمرین استقامتی:** قبل از اجرای پروتکل پژوهشی، موش‌ها به مدت یک هفته با دویدن روی نوارگردان آشنا شدند. بدین منظور موش‌ها در لاین‌های نوارگردان مخصوص جوندگان قرار گرفته و به مدت یک هفته و پنج جلسه در هفته با سرعت ۱۰-۶ متر بر دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه می‌دویدند. پس از آشناسازی، پروتکل اصلی تمرین استقامتی اجرا شد. برنامه تمرین استقامتی به مدت شش هفته و پنج جلسه در هفته (مجموعاً ۳۰ جلسه) توسط گروه تمرین+تومور اجرا شد. سرعت نوارگردان در دو هفته نخست ۱۴، دو هفته دوم ۱۶ و در دو هفته آخر ۱۸ متر بر دقیقه در نظر گرفته شده بود (۱۲). قبل و بعد از اجرای پروتکل اصلی موش‌ها به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه به منظور گرم کردن و سرد کردن روی نوارگردان می‌دویدند. در طول اجرای تمرین ورزشی شوک الکتریکی خاموش و از شوک الکتریکی برای تحریک موش‌ها به دویدن استفاده نشد.

سنجش متغیرهای مورد بررسی: پس از پیدایش تومور، هر هفته یک بار طول و عرض تومور توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول محاسباتی حجم تومور $[V = \pi/6 (w \times L^2)]$ میزان آن تعیین گردید (۲۱). حجم تومور در دو بعد اندازه‌گیری شد. بزرگ‌ترین بعد تومور به عنوان طول (L) تومور و بعد دیگر (در زاویه ۹۰ درجه) به عنوان عرض (W) در نظر گرفته شد. پس از قربانی کردن موش‌ها، بلافاصله بافت عضله دوقلو برداشته و وزن عضله دوقلو توسط ترازوی پزشکی (ساخت شرکت Sartorius آلمان) اندازه‌گیری شد. سپس بافت عضلانی در نیتروژن مایع فریز و تا زمان انجام آزمایشات مورد نظر در فریزر با دمای ۸۰- نگهداری شد. در آزمایشگاه، میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ظرف هموژنایزر حاوی محلول لیزات قرار داده شد و بافت کاملاً خرد و سپس بافت هموژن شده به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سوسپانسیون رویی (سوپرناتانت) در میکروتیوب جدید منتقل شد. محلول لیزات حاوی NaCl , KCl , Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 و PMSF بود (۲۲). سوپرناتانت به منظور اجرای آزمون الیزا مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری میوستاتین با کیت الیزای ساخت شرکت Lsbio، با شماره کاتالوگ LS-F35789 و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

روش‌های آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها: بعد از تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی، توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد. نخست برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک استفاده شد و از آنجایی که نتایج این آزمون طبیعی بودن توزیع داده‌ها را نشان داد، از آزمون‌های پارامتریک استفاده شد. همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی شد. برای مقایسه تغییرات

بین گروهی از آزمون آنوای یک راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تغییرات حجم تومور نیز با آزمون t مستقل بررسی شد. تمامی داده‌های حاصل از پژوهش حاضر با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ تجزیه و تحلیل شد. همچنین، عدد معناداری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، از یافته‌های تمامی موش‌ها در گروه‌های مختلف پژوهشی (مجموعاً شامل ۲۴ موش) استفاده شد و هیچ کدام از موش‌ها از پژوهش خارج نشدند. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای سطوح میوستاتین بافت عضله دوقلو نشان داد که بین گروه‌ها تفاوت معناداری وجود دارد ($p < 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی به منظور تعیین محل اختلاف بین گروه‌ها نشان داد که سطوح میوستاتین بافت عضله در گروه کنترل سالم به صورت معناداری کمتر از گروه کنترل توموری ($p < 0.001$) و تمرین+تومور ($p = 0.001$) است. علاوه بر این، سطوح میوستاتین عضلانی در گروه تمرین+تومور در مقایسه با گروه کنترل توموری کاهش معناداری نشان داد ($p = 0.037$).

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نیز اختلاف معناداری را بین وزن عضله دوقلوی گروه‌های مختلف نشان داد ($p < 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه کنترل سالم با گروه توموری ($p < 0.001$) و تمرین+تومور ($p < 0.001$) اختلاف معناداری وجود دارد. علاوه بر این، اختلاف بین گروه تمرین+تومور با گروه کنترل توموری از نظر آماری معنادار بود ($p = 0.015$). سطوح میوستاتین و وزن عضله دوقلوی گروه‌های مختلف پژوهشی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین بیان شده است.

جدول ۱: سطوح میوستاتین و وزن عضله دوقلو در گروه‌های مختلف

گروه	وزن عضله دوقلو (میلی‌گرم)	سطوح میوستاتین در بافت عضله دوقلو (pg/ml)
کنترل سالم	$117/8 \pm 2/29$	$43/12 \pm 2/94$
کنترل توموری	$90/87 \pm 3/09$	$55/62 \pm 4/98$
تمرین+تومور	$96/25 \pm 4/62$	$50/87 \pm 2/10$

□ نشانه اختلاف معنادار معنادار با گروه‌های توموری (کنترل توموری، تمرین+تومور)

نشانه اختلاف معنادار با گروه کنترل توموری

نتایج آزمون آنالیز t مستقل برای حجم تومور نیز نشان داد که بین گروه‌ها اختلاف معناداری وجود دارد ($p < 0.001$). بر مبنای نتایج حاضر، حجم تومور در گروه تمرین+تومور به صورت معناداری کمتر از گروه کنترل توموری است. اندازه حجم تومور در جدول شماره ۲ گزارش شده است.

جدول ۲: اندازه حجم تومور در گروه‌های پژوهشی	
گروه	حجم تومور (سانتی‌متر مکعب)
کنترل توموری	0.815 ± 0.095
تمرین+تومور	0.452 ± 0.067

نشانه اختلاف معنادار با گروه کنترل توموری

بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر شش هفته تمرین استقامتی بر حجم تومور و سطوح میوستاتین در بافت عضلانی موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان انجام شد. نتایج حاضر نشان داد که سطوح میوستاتین بافت عضلانی در گروه تمرین+تومور به صورت معناداری کمتر از گروه کنترل توموری بود ($p = 0.037$). همچنین، وزن عضله دوقلو به صورت معناداری در گروه تمرین+تومور در مقایسه با گروه کنترل توموری بیشتر بود ($p = 0.015$). در مقایسه حجم تومور بین گروه کنترل و تمرین، کاهش معنادار حجم تومور در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.001$).

بیان میوستاتین در برخی وضعیت‌های مرتبط با آتروفی عضلانی از قبیل سرطان، ناشتایی، عصب‌زدایی و پیری دچار تنظیم افزایشی می‌شود (۲۳). در تایید این گفته‌ها، نتایج حاضر نیز نشان داد که سرطان پستان با افزایش سطوح میوستاتین بافت عضلانی در مقایسه با گروه کنترل همراه است که بر نقش احتمالی میوستاتین در کاشکسی سرطان تاکید دارد.

یافته‌های حاضر نشان دهنده نقش تمرینات ورزشی استقامتی در تنظیم کاهشی میوستاتین بافت عضلانی در موش‌های توموری بود. نتایج در رابطه با تاثیر تمرینات ورزشی بر سطوح میوستاتین ضد و نقیض است و برخی پژوهشگران افزایش (۲۴) و برخی دیگر کاهش (۲۵) سطوح میوستاتین را به دنبال شرکت در تمرینات ورزشی منظم گزارش کرده‌اند. همسو با یافته‌های حاضر کو^۳ و

همکارانش (۲۰۱۴) نشان دادند که شش هفته تمرین استقامتی در رت‌های پیر منجر به کاهش معنادار بیان میوستاتین و افزایش قدرت و توده عضلانی می‌شود که بر اثرگذاری مثبت تمرینات استقامتی بر توده عضلانی به واسطه سرکوب میوستاتین تاکید دارد (۲۶). با وجود یافته‌ها و نوع و مدت زمان مشابه برنامه تمرینی، آزمودنی‌های پژوهش حاضر برخلاف پژوهش کو و همکاران (۲۰۱۴) سرطانی بودند. در پژوهشی دیگر، خامویی^۴ و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی تاثیر دو نوع تمرین هوازی و مقاومتی روی وضعیت کاشکسی موش‌های مبتلا به سرطان کولون نشان دادند که هر دو نوع تمرین با کاهش سطوح میوستاتین در عضله دوقلو همراه است که کاهش میوستاتین در مقایسه با گروه توموری کنترل به دنبال تمرین مقاومتی (۳۷٪) بیشتر از تمرین استقامتی (۱۰٪) بود. بر اساس این نتایج، محققان عنوان کردند که تمرین ورزشی می‌تواند یک روش کارآمد به منظور مقابله با کاشکسی سرطان باشد (۱۷). البته طول دوره تمرین پژوهش خامویی و همکارانش (۲۰۱۶) بیشتر از پژوهش حاضر بود (هشت هفته در مقایسه با شش هفته) و نوع تومور القا شده (تومور کولون در مقایسه با تومور پستان) نیز متفاوت بود.

برخی محققان نیز عنوان کرده‌اند که برنامه تمرین ورزشی به صورت فعالیت اختیاری روی چرخ کارسنج (۱۹ روز) با افزایش معنادار وزن عضله تییبالیس قدامی در گروه تمرین کرده در مقایسه با گروه کنترل همراه است که محققان این تاثیرات مثبت تمرینات ورزشی را به نقش آن در تعدیل اتوفازی نسبت دادند (۲۷). با وجود این در پژوهش حاضر به جای عضله تییبالیس قدامی، وزن عضله دوقلو مورد بررسی قرار گرفت که نتایج بیشتر بودن آن را در گروه تمرین کرده توموری در مقایسه با کنترل توموری نشان داد و کاهش سطوح میوستاتین به عنوان یکی از مسیرهای احتمالی اثرگذاری مثبت تمرینات استقامتی در جلوگیری از تحلیل توده عضلانی مرتبط با کاشکسی مطرح شد. این یافته‌ها بر این واقعیت تاکید دارد که انواع مختلف تمرینات ورزشی استقامتی (به صورت اختیاری یا اجباری) با شدت‌های مختلف می‌تواند در کند کردن روند

^۴ Khamoui

^۳ Ko

تحلیل توده عضلانی ناشی از سرطان در نمونه‌های حیوانی مبتلا به سرطان موثر باشد.

در مورد سازوکاری که میوستاتین می‌تواند منجر به کاشکسی گردد، مک‌فارلان و همکارانش (۲۰۰۶) نشان دادند که درمان با میوستاتین منجر به تنظیم افزایشی ژن‌های مرتبط با یوبی‌کوئیتین از قبیل atrogen-1 و MuRF-1^5 می‌شود. علاوه بر این، مسیر پیام‌رسانی میوستاتین در کاشکسی، مسیر هیپرتروفی IGF- $\text{PI3K}^6/\text{AKT}$ را به واسطه مهار فسفوریلاسیون Akt معکوس می‌کند و در نتیجه موجب افزایش FOXO1⁸ فعال شده می‌گردد که با افزایش بیان ژن‌های وابسته به آتروفی همراه است (۲۸). در تایید یافته‌های حاضر، بوگدانوویچ⁹ و همکارانش (۲۰۰۲) گزارش کردند که درمان موش‌ها با آنتی‌بادی میوستاتین منجر به افزایش توده عضلانی در موش‌های ۱۶ هفته‌ای می‌شود (۲۹). وایتمور^{۱۰} و همکارانش (۲۰۰۳) نیز افزایش توده عضلانی را در موش‌های ۲۹-۹ هفته‌ای متعاقب تزریق آنتی‌بادی میوستاتین نشان دادند (۱۱). در هر دو مطالعه فوق افزایش توده عضلانی به میزان ۳۰-۱۱٪ را منحصراً با افزایش هیپرتروفی مرتبط دانستند که متأسفانه در پژوهش حاضر مسیرهای هیپرتروفی عضلانی مورد بررسی قرار نگرفته است. سایر محققان نیز نقش مهار میوستاتین را در رشد عضلانی موش‌های سالم و مبتلا به سرطان نشان داده‌اند (۳۰).

برخی مطالعات صورت گرفته روی نمونه‌های انسانی نیز به نقش تمرینات ورزشی (مقاومتی) در کاهش سطوح سرمی میوستاتین اشاره کرده‌اند. در این راستا، صارمی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که هشت هفته تمرین ورزشی مقاومتی به تنهایی یا در ترکیب با مکمل کراتین منجر به کاهش معنادار سطوح سرمی میوستاتین در مردان جوان سالم می‌شود. این محققان گزارش کردند که کاهش سطوح میوستاتین سرمی با افزایش معنادار توده خالص بدن (LBM^{11}) همراه بوده است که بر نقش موثر مهار

فعالیت میوستاتین در هیپرتروفی عضلانی تاکید دارد (۳۱). اما برخلاف یافته‌های حاضر، پادراو^{۱۲} و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تمرینات استقامتی تأثیری بر سطوح سرمی میوستاتین و سطوح آن در بافت قلب رت‌های توموری شده با N-metil-N-nitrosurea ندارد (۳۲). البته نوع آزمودنی (رت در مقایسه با موش)، جایگاه بررسی (قلب و سرم در مقایسه با عضله دوقلو در پژوهش حاضر) و همچنین نوع سلول‌های سرطانی تزریق شده، متفاوت از پژوهش حاضر بود که همه این موارد می‌تواند نتایج متناقض با پژوهش حاضر را توجیه کند. برخی محققان نیز عدم تغییر در بیان میوستاتین بافت قلب را بعد از هشت هفته تمرین مقاومتی در رت‌های سالم و یستار نشان داده‌اند (۳۳). در مجموع، یافته‌های ارایه شده در این بخش و همچنین نتایج پژوهش حاضر در رابطه با تأثیر تمرینات ورزشی بر سطوح میوستاتین نشان داد که تغییرات میوستاتین به دنبال تمرینات ورزشی ممکن است به عوامل مختلفی بستگی داشته باشد که از جمله آنها می‌توان به طول دوره تمرین ورزشی، شدت، مدت و نوع برنامه تمرین ورزشی استفاده شده، جایگاه بررسی میوستاتین (سرم، عضله اسکلتی، قلب و...) و همچنین عواملی از قبیل نوع آزمودنی‌ها و تومور القا شده اشاره کرد. احتمالاً روش بررسی تغییرات میوستاتین (بیان ژن، الیزا و...) هم می‌تواند بر نتایج متناقض موجود در این زمینه اثرگذار باشد. علاوه بر این، توصیه می‌شود به منظور تعمیم یافته‌های حاضر روی نمونه‌های انسانی با احتیاط عمل شود و مطالعات بیشتری در این رابطه مورد نیاز است.

یکی دیگر از یافته‌های پژوهش حاضر این بود که شش هفته تمرین استقامتی با کاهش معنادار حجم تومور همراه است ($p < 0.001$). همسو با یافته‌های حاضر، مطالعات متعددی کاهش حجم تومور را به دنبال انواع مختلف تمرینات ورزشی به صورت استقامتی (۱۲)، مقاومتی (۱۳) و تناوبی (۲۰) نشان داده‌اند. همسو با نتایج پژوهش پیش رو، زلینسکی و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که تمرینات دویدن استقامتی در موش‌های بالغ سی موجب کاهش رشد تومور و چگالی عروقی در بافت تومور می‌شود که این امر را به کاهش تجمع نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها نسبت دادند (۳۴). علاوه بر این، مسیرهای دیگری از قبیل

⁵ Muscle RING Finger 1

⁶ Insulin-like growth factor 1

⁷ Phosphoinositide 3-Kinase

⁸ Forkhead Box Protein O1

⁹ Bogdanovich

¹⁰ Whittemore

¹¹ Lean Body Mass

¹² Padrão

IGF-I, (Mammalian Target of Rapamycin) mTOR و غیره نیز پرداخته شود.

نتیجه‌گیری

از آنجایی که یکی از مسیرهای عمده در بروز کاشکسی عضلانی، تنظیم افزایشی سطوح میوستاتین به عنوان یک عامل بازدارنده رشد عضلانی است، نتایج پژوهش حاضر کاهش سطوح میوستاتین را به عنوان یکی از مسیرهای اثرگذاری مثبت تمرین ورزشی بر کاشکسی معرفی می‌کند. بر این اساس، می‌توان عنوان کرد که تمرینات ورزشی استقامتی علاوه بر کاهش حجم تومور، از طریق مهار ژن‌های دخیل در آتروغی عضلانی و کاشکسی می‌تواند به عنوان یک راهکار کمکی برای مهار تحلیل عضلانی مورد توجه قرار گیرد. از این رو ممکن است شرکت در تمرینات استقامتی به منظور مقابله با اثرات تحلیل برنده سرطان روی بافت عضلانی بتواند موثر واقع شود (نیاز به بررسی بیشتری دارد) که احتمالاً این تأثیرات مثبت تمرین ورزشی علاوه بر سرکوب مسیرهای آتروفی با فعال کردن مسیرهای هایپرتروفیک نیز مرتبط است که باید در پژوهش‌های آتی مشخص گردد. باوجود این به‌منظور مشخص شدن تأثیر قطعی تمرینات استقامتی بر کاشکسی سرطان نیاز به انجام مطالعات بیشتری است.

تقدیر و تشکر

مقاله پژوهشی حاضر بر اساس یافته‌های پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی نگاشته شده است. بدین‌وسیله از مسولین دانشکده پیراپزشکی تهران، گروه هماتولوژی به‌خاطر کمک‌های بی‌دریغشان در کشت و تزریق سلول‌های سرطانی تشکر می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تعارض منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

کاهش عوامل التهابی (۳۵، ۳۶)، کاهش عوامل مرتبط با رگ‌زایی تومور (۱۲) و افزایش عوامل ضدالتهابی (۳۷) در بافت تومور را به عنوان مسیرهای احتمالی اثرگذاری تمرین ورزشی در کاهش حجم تومور معرفی کرده‌اند. البته به نظر می‌رسد مدت زمان دوره تمرین ورزشی نیز در تغییرات مشاهده شده در حجم تومور موثر است، به نحویکه محققان نشان داده‌اند که دوره‌های کوتاه مدت تمرین ورزشی (دو هفته) تغییر معناداری در حجم تومور ایجاد نمی‌کند (۳۸). جالب اینکه برخی محققان گزارش کرده‌اند که میوستاتین توسط سلول‌های توموری نیز ترشح می‌شود و میوستاتین ترشح شده از بافت تومور می‌تواند نقش مهمی در پاتوژنز کاشکسی سرطان داشته باشد (۳۹). بنابراین، احتمالاً بخشی از اثرگذاری مثبت تمرین ورزشی بر کاشکسی با کاهش حجم تومور و در نتیجه کاهش ترشح عوامل اثرگذار بر کاشکسی از جمله میوستاتین مرتبط باشد که متأسفانه در پژوهش حاضر تغییرات میوستاتین در بافت تومور بررسی نشده است و به منظور شناسایی مسیرهای دقیق تأثیر تمرین استقامتی بر کاشکسی عضلانی باید مطالعات بیشتری صورت گیرد. با این همه، برخی محققان عنوان کرده‌اند که احتمالاً ارتباطی بین حجم تومور و کاشکسی وجود ندارد و به نظر نمی‌رسد که کاشکسی نتیجه اندازه تومور، نوع و گستردگی تومور باشد (۴۰).

یکی از محدودیت‌های اصلی پژوهش حاضر عدم بررسی تغییرات در توده چربی به عنوان یکی دیگر از بافت‌های متأثر از است که توصیه می‌شود در مطالعات آتی مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر این، از آنجایی که در پژوهش حاضر صرفاً یکی از عوامل موثر در مهار مسیر رشد عضلانی (میوستاتین) مورد بررسی قرار گرفته است و تأثیر تمرینات استقامتی بر مسیرهای هایپرتروفی عضلانی در نمونه‌های سرطانی هنوز هم تا حدود زیادی نامشخص است، توصیه می‌شود در پژوهش‌های بعدی به بررسی تأثیر تمرین ورزشی بر عوامل محرک رشد عضلانی از قبیل

References

- Kim JY, Lee E, Park K, Park WY, Jung HH, Ahn JS, et al. Clinical implications of genomic profiles in metastatic breast cancer with a focus on TP53 and PIK3CA,

the most frequently mutated genes. *Oncotarget*. 2017; 8(17): 27997-8007.

- Kaplan MA, Arslan UY, Işıkdogan A, Dane F, Oksuzoglu B, Inanc M, et al.

- Biological subtypes and distant relapse pattern in breast cancer patients after curative surgery (Study of anatolian society of medical oncology). *Breast Care* 2016; 11(4):248-52.
3. Jackman RW, Floro J, Yoshimine R, Zitin B, Eiampikul M, El-Jack K, et al. Continuous Release of Tumor-Derived Factors Improves the Modeling of Cachexia in Muscle Cell Culture. *Frontiers in Physiology* 2017 25;8:738.
 4. Iwata Y, Suzuki N, Ohtake H, Kamauchi S, Hashimoto N, Kiyono T, et al. Cancer cachexia causes skeletal muscle damage via transient receptor potential vanilloid 2- independent mechanisms, unlike muscular dystrophy. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle* 2016; 7(3):366-76.
 5. Bonetto A, Kays JK, Parker VA, Matthews RR, Barreto R, Puppa MJ, et al. Differential bone loss in mouse models of colon cancer cachexia. *Frontiers in physiology* 2017; 11; 7:679.
 6. Ferreira R, Nogueira-Ferreira R, Vitorino R, Santos LL, Moreira-Gonçalves D. The impact of exercise training on adipose tissue remodeling in cancer cachexia. *Porto Biomedical Journal* 2017; 24(7): 3253-9.
 7. Maddocks M, Murton AJ, Wilcock A. Improving muscle mass and function in cachexia: non-drug approaches. *Current opinion in supportive and palliative care* 2011; 5(4):361-4.
 8. Costelli P, Muscaritoli M, Bonetto A, Penna F, Reffo P, Bossola M, et al. Muscle myostatin signalling is enhanced in experimental cancer cachexia. *European journal of clinical investigation* 2008; 38(7):531-8.
 9. Argilés JM, Busquets S, López- Soriano FJ, Costelli P, Penna F. Are there any benefits of exercise training in cancer cachexia?. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle* 2012; 3(2):73-6.
 10. Zimmers TA, Davies MV, Koniaris LG, Haynes P, Esquela AF, Tomkinson KN, et al. Induction of cachexia in mice by systemically administered myostatin. *Science* 2002; 296(5572): 1486-8.
 11. Andre MS, Johnson M, Bansal PN, Wellen J, Robertson A, Opsahl A, et al. A mouse anti-myostatin antibody increases muscle mass and improves muscle strength and contractility in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy and its humanized equivalent, domagrozumab (PF-06252616), increases muscle volume in cynomolgus monkeys. *Skeletal muscle* 2017; 7(1):25.
 12. Shalamzari SA, Agha-Alinejad H, Alizadeh S, Shahbazi S, Khatib ZK, Kazemi A, et al. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. *Iran J Basic Med Sci* 2014;17(4): 231-58.
 13. Khor V, Shalamzari SA, 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. *European journal of pharmacology* 2015; 765: 179-87.
 14. Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *The lancet oncology* 2011; 12(5): 489-95.
 15. Konopka AR, Harber MP. Skeletal muscle hypertrophy after aerobic exercise training. *Exercise and sport sciences reviews* 2014; 42(2): 53-61.
 16. Bowen TS, Schuler G, Adams V. Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle* 2015; 6(3): 197-207.
 17. Khamoui AV, Park BS, Kim DH, Yeh MC, Oh SL, Elam ML, et al. Aerobic and resistance training dependent skeletal muscle plasticity in the colon-26 murine model of cancer cachexia. *Metabolism* 2016; 65(5): 685-98.
 18. Loprinzi PD, Cardinal BJ, Winters-Stone K, Smit E, Loprinzi CL. Physical activity and the risk of breast cancer recurrence: a literature review. In *Oncology nursing forum* 2012; 39(3): 269-74.

19. Pinto AC, de Azambuja E. Improving quality of life after breast cancer: dealing with symptoms. *Maturitas* 2011; 70(4): 343-8.
20. Ahmadian M, Azizbeigi K, Delfan Z, Atashak S. The Effect of High Intensity Interval Training on STAT-3 and Angiopoietin-1 Gene Expression, and tie-2 Protein in Mice with Breast Cancer. *Iranian Quarterly Journal of Breast Disease* 2018; 11(1):37-46.
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. *J Appl Physiol* 2010; 108(2): 343-8.
22. Shamsi MM, Chekachak S, Soudi S, Quinn LS, Ranjbar K, Chenari J, et al. Combined effect of aerobic interval training and selenium nanoparticles on expression of IL-15 and IL-10/TNF- α ratio in skeletal muscle of 4T1 breast cancer mice with cachexia. *Cytokine* 2017; 90: 100-8.
23. Smith IJ, Aversa Z, Alamdari N, Petkova V, Hasselgren PO. Sepsis downregulates myostatin mRNA levels without altering myostatin protein levels in skeletal muscle. *Journal of cellular biochemistry* 2010; 111(4):1059-73.
24. Willoughby DS. Effects of heavy resistance training on myostatin mRNA and protein expression. *Medicine and science in sports and exercise* 2004; 36(4):574-82.
25. Matsakas A, Bozzo C, Cacciani N, Caliaro F, Reggiani C, Mascarello F, et al. Effect of swimming on myostatin expression in white and red gastrocnemius muscle and in cardiac muscle of rats. *Experimental physiology* 2006; 91(6):983-94.
26. Ko IG, Jeong JW, Kim YH, Jee YS, Kim SE, Kim SH, et al. Aerobic exercise affects myostatin expression in aged rat skeletal muscles: a possibility of antiaging effects of aerobic exercise related with pelvic floor muscle and urethral rhabdosphincter. *International neurourology journal* 2014; 18(2):77.
27. Pigna E, Berardi E, Aulino P, Rizzuto E, Zampieri S, Carraro U, et al. Aerobic exercise and pharmacological treatments counteract cachexia by modulating autophagy in colon cancer. *Scientific Reports* 2016; 6:26991.
28. McFarlane C, Plummer E, Thomas M, Hennebry A, Ashby M, Ling N, et al. Myostatin induces cachexia by activating the ubiquitin proteolytic system through an NF- κ B- independent, FoxO1- dependent mechanism. *Journal of cellular physiology* 2006; 209(2):501-14.
29. Latres E, Pangilinan J, Miloscio L, Bauerlein R, Na E, Potocky TB, et al. Myostatin blockade with a fully human monoclonal antibody induces muscle hypertrophy and reverses muscle atrophy in young and aged mice. *Skeletal muscul.* 2015; 5(1):34.
30. Liu CM, Yang Z, Liu CW, Wang R, Tien P, Dale R, Sun LQ. Myostatin antisense RNA-mediated muscle growth in normal and cancer cachexia mice. *Gene therap.* 2008; 15(3):155-60.
31. Saremi A, Gharakhanloo R, Sharghi S, Gharaati MR, Larijani B, Omidfar K. Effects of oral creatine and resistance training on serum myostatin and GASP-1. *Molecular and cellular endocrinology* 2010; 317(1-2): 25-30.
32. Padrão AI, Moreira-Gonçalves D, Oliveira PA, Teixeira C, Faustino-Rocha AI, Helguero L, et al. Endurance training prevents TWEAK but not myostatin-mediated cardiac remodelling in cancer cachexia. *Archives of biochemistry and biophysics* 2015; 567:13-21.
33. Rashidlamir A, Basami M.R, Attarzadeh Hosseini S.R, Hejazi K, Motevalli Anberani. 8 Weeks of Resistance Training Effect on Myostatin Gene Expression of Myocardium in Healthy Male Wistar Rats. *Quarterly of the Horizon of Medical Sciences* 2016; 22 (2): 111-6.
34. Zielinski MR, Muenchow M, Wallig MA, Horn PL, Woods JA. Exercise delays allogeneic tumor growth and reduces intratumoral inflammation and vascularization. *Journal of Applied Physiology* 2004; 96(6): 2249-56.

35. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux TL, McClellan JL, Steiner JL, Carmichael MD, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine* 2011; 55(2):274-9.
36. Pedersen L, Idorn M, Olofsson GH, Lauenborg B, Nookaew I, Hansen RH, et al. Voluntary running suppresses tumor growth through epinephrine-and IL-6-dependent NK cell mobilization and redistribution. *Cell metabolism* 2016; 23(3): 554-62.
37. Shiri Y, Agha- Alinejad H, Gharakhanlou R, Amani Shalamzari S, Saei M A. Effect of six weeks endurance training on tumor tissue IL-10 cytokine levels in breast cancer bearing mice. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2014; 16 (3) :205-10.
38. Woods JA, Davis JM, Kohut ML, Ghaffar A, Mayer EP, Pate RR. Effects of exercise on the immune response to cancer. *Medicine and science in sports and exercise* 1994; 26(9):1109-15.
39. Lokireddy S, Wijesoma IW, Bonala S, Wei M, Sze SK, McFarlane C, et al. Myostatin is a novel tumoral factor that induces cancer cachexia. *Biochemical Journal* 2012; 446(1):23-36.
40. Fox KM, Brooks JM, Gandra SR, Markus R, Chiou CF. Estimation of Cachexia among Cancer Patients Based on Four Definitions. *Journal of oncology*. 2009; 693458.