

Original Article

The Effect of Interval Training on the Expression of Tumor Suppressor Gene, Systemic Inflammation, and Tumor Volume in Breast Cancer-Bearing BALB/c Mice

Sadeghipoor Vojdani F¹, Agha-Alinejad H^{1*}, Molanouri Shamsi M¹, Soudi S², Khanchi S¹

¹ Physical Education & Sport Sciences Department, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

² Immunology Department, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Receive: 15/7/2019
Accepted: 1/10/2019

*Corresponding Author:
halinejad@modares.ac.ir

Ethics Approval:
IR.MODARES.REC.1397.264

Abstract

Introduction: E-cadherin is expressed in most normal epithelial tissues. Loss of E-cadherin can cause dedifferentiation and invasiveness in human carcinomas, leading E-cadherin to be classified as a tumor suppressor. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of interval training on the expression of tumor suppressor gene E-cadherin in breast cancer-bearing BALB/c mice.

Methods: Twenty female BALB/c mice were purchased from the Pasteur Institute and transferred to the Animal Laboratory of Tarbiat Modares University and randomly divided into four groups of training-cancer-rest, training-cancer-training, rest-cancer-rest, and rest-cancer-training. Cancer was induced by subcutaneous injection of 4T1 cell line. The mice performed an average-intensity interval training for 10 weeks, 5 days per week. Forty-eight hours after the last exercise session, the mice were sacrificed to measure the research variables. Gene expression was investigated using real-time PCR. The Kruskal-Wallis test was used to determine the statistical differences between groups.

Results: There was a significant difference in the E-cadherin gene expression between the training-cancer-training and rest-cancer-rest groups ($p=0.03$). This difference was also observed between the training-cancer-training and training-cancer-rest groups ($p=0.04$).

Conclusion: Interval exercise training may influence the expression of major tumor suppressor genes and systemic inflammation involved in the development of metastasis and even reverse this process.

Keywords: E-Cadherin, High-intensity Interval Training, Breast Cancer, Metastasis

بررسی اثر تمرینات ورزشی تناوبی بر بیان ژن سرکوبگر تومور، التهاب سیستمیک و حجم تومور در موش‌های مبتلا به سرطان پستان

فرانک صادقی‌پور وجدانی^۱، حمید آقاعلی‌نژاد^{۱*}، مهدیه ملانوری شمسی^۱، سارا صعودی^۲، سنا خانچی^۱

^۱ گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۲ گروه ایمونولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

تاریخ ارسال: ۹۸/۴/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۹

* نویسنده مسئول:

halinejad@modares.ac.ir

مقدمه: E-cadherin در بیشتر بافت‌های نرمال اپیتلیال بیان می‌شود. از دست رفتن E-cadherin می‌تواند منجر به تمایز و تهاجم در انواع کارسینوما شود؛ لذا E-cadherin به عنوان یک سرکوبگر تومور در نظر گرفته می‌شود. از این‌رو، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرینات تناوبی بر بیان ژن E-cadherin به عنوان ژن سرکوبگر تومور در موش‌های مبتلا به سرطان پستان است.

روش بررسی: بدین منظور ۲۰ سر موش (Balb/c) ماده با میانگین وزن 17 ± 0.8 گرم از موسسه پاستور خریداری و در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس تحت شرایط کنترل شده نگهداری و به طور تصادفی به چهار گروه (استراحت-سرطان- استراحت، استراحت-سرطان- تمرین، تمرین-سرطان- استراحت و تمرین-سرطان- تمرین) تقسیم شدند؛ گروه‌های تمرینی پس از آشناسازی وارد شش هفته برنامه تمرینی تناوبی شدند، و پس از پایان دوره تمرینی، موش‌ها با تزریق سلول سرطان پستان از رده‌ی 4T1 توموری شدند و مجدد گروه‌های تمرینی وارد چهار هفته برنامه تمرینی تناوبی شدند. ۴۸ ساعت پس از اجرای آخرین جلسه تمرینی موش‌ها قربانی شدند. بیان ژن E-cadherin در بافت تومور به روش Real-time PCR بررسی شد. جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج تفاوت معنادار ژن E-cadherin را بین گروه‌های تمرین-سرطان-تمرین و استراحت-سرطان- استراحت نشان می‌دهد ($p=0.03$). همچنین این تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرین-سرطان- استراحت و تمرین-سرطان-تمرین نیز وجود داشت ($p=0.04$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد، تمرینات تناوبی می‌تواند به عنوان یک راهبرد غیر دارویی باعث تعدیل بیان ژن‌های سرکوبگر تومور، تهاجم توموری، متاستاز و التهاب سیستمیک شود و حتی روند پیشروی بیماری و متاستاز را معکوس کند.

واژه‌های کلیدی: E-cadherin، تمرین تناوبی، سرطان پستان، متاستاز

مقدمه

سرطان یکی از دلایل اصلی مرگ و میر در جهان است. در سال ۲۰۰۸ حدود هشت میلیون مرگ به دلیل سرطان به ثبت رسید و پیش‌بینی می‌شود این رقم تا سال ۲۰۳۰ به ۱۱ میلیون نفر برسد. سرطان پستان رایج‌ترین سرطان در بین زنان دنیا به حساب می‌آید (۱). هر ساله در ایران بیش از ۵۰۲۰۰۰ نفر از زنان مبتلا به سرطان پستان جان خود را از دست می‌دهند. شیوع این بیماری در حدود یک سوم کل سرطان‌های زنان بوده است (۲).

برای سلول‌های سرطانی ۱۰ مشخصه عنوان شده است. این مشخصه‌ها عبارتند از: ۱. حفظ پیام رشد ۲. گریز از پیام‌های مهارى رشد ۳. گریز از آپوپتوز ۴. توانایی همانندسازی نامحدود ۵. آنژیوژن (رگ‌زایی) ۶. تهاجم و متاستاز ۷. تنظیم مجدد سیستم انرژی سلولی ۸. گریز از سیستم ایمنی ۹. موتاسیون و بی‌ثباتی ژنوم ۱۰. التهاب ناشی از تومور (۳). سلول‌های سرطانی تغییراتی را در شکل و چسبندگی به دیگر سلول‌ها و به ماتریکس برون سلولی (ECM)^۱ پیدا می‌کنند و دیر یا زود در طول پیشروی بسیاری از انواع سرطان، سلول‌های بافت تومور اولیه به بافت‌های مجاور حمله می‌کنند، و از آنجا به نواحی دورتر سفر می‌کنند تا تشکیل کلونی دهند. این انتشار که متاستاز نام دارد علت ۹۰٪ مرگ بیماران سرطانی می‌باشد (۴). اعضای ابر خانواده کاده‌رین^۲ سبب اتصال سلول به سلول و ارتباط در سیستم‌های مختلف بدن می‌شود. کاده‌رین‌ها عوامل وابسته به کلسیم هستند که به عنوان گیرنده غشا گذر عمل می‌کنند و ارتباطات بین سلولی را میانجی‌گری می‌کنند. مشاهدات مکرر از تنظیم کاهشی E-cadherin در کارسینومای انسان از نقش E-cadherin به عنوان یک سرکوبگر تهاجم و متاستاز حمایت می‌کند (۵، ۶). به عبارتی سلول‌های مهاجم دستخوش تغییر در چسبندگی سلولی و انتقال از حالت اپیتلیال به مزانشیمی^۳ می‌شوند، عملی که در سلول‌های طبیعی دیده نمی‌شود. (۵). در اغلب سرطان‌های با منشأ اپیتلیال، چسبندگی سلول-سلول با واسطه E-cadherin همراه با توسعه و رشد تومور بدخیم از بین می‌رود (۷). در بیماران با سرطان‌های متاستاتیک روده، پستان و

مشاهدات کمتر در سرطان‌های تیروئید، مثانه و سرطان‌های مربوط به زنان، ژن E-cadherin دچار موتاسیون شده و منجر به بیان پروتئین‌های غیرعملکردی می‌شود؛ و در اغلب موارد بیان E-cadherin در مرحله رونویسی تنظیم کاهشی می‌یابد (۸). از سوی دیگر سیستم ایمنی و رهایش مایوکاین‌ها تحت تاثیر تمرینات بدنی شدت متوسط قرار می‌گیرد و تقویت می‌گردد؛ که این نقش مهمی در پیشگیری از بروز بیماری‌های التهابی نظیر سرطان پستان دارد. انجام تمرینات ورزشی همسو با کاهش درصد چربی بدن و همچنین کاهش التهاب سیستمیک درجه خفیف می‌باشد که در پاتوژنز سرطان نقش دارند. به‌علاوه فعالیت بدنی می‌تواند باعث پیشگیری نیمی از سرطان‌ها شود (۹). ساز و کار دیگری که روئیز و همکاران در سال ۲۰۱۷ در رابطه با اثر تمرین ورزشی بر روی تهاجم و متاستاز سلول‌های سرطانی عنوان کردند این بود که تمرین ورزشی می‌تواند سطوح بتا-کاتنین و E-cadherin را در هسته سلول توموری به ترتیب کاهش و افزایش دهد. همچنین تمرین ورزشی می‌تواند به وسیله‌ی افزایش فعالیت گیرنده دوپامین^۴ (DR2)، متعاقب آن سرکوب TGF- β 1 و GSK-3 β ، و در نهایت منجر به سرکوب فرآیند EMT و متاستاز می‌شود. مسیرهای پیام‌رسانی مختلف با واسطه GSK-3 β باعث توسعه EMT، تحریک Wnt و PI3K می‌شود. در این مسیرها، تنظیم افکتورهای دیگر نظیر بتا-کاتنین توسط GSK3 β به طور هماهنگ با تغییرات snail و در پی آن E-cadherin همراه است. تمام این مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که E-cadherin توسط بسیاری از پروتئین‌های آبشارهای پیام‌رسانی مختلف تنظیم می‌شود (۱۰-۱۳).

تمرین ورزشی همچنین ممکن است با حفظ بیان پروتئین‌های اکلودین^۵ و کلودین-۵^۶، کمک به حفظ سد خونی مغزی (BBB)^۷ در مقابل تهاجم متاستاتیک کند (۱۴). برخی مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات داوطلبانه در موش‌های Apc Min/+ مبتلا به سرطان کلون به ترتیب میزان بتا-کاتنین و E-cadherin هسته‌ای را کاهش و افزایش می‌دهد (۱۵). تمرینات اینتروال هم که

⁴ Dopamine Receptor2

⁵ occludin

⁶ claudin-5

⁷ Brain Blood Barrier

¹ Extracellular Matrix

² Cadherin

³ Epithelial Mesenchymal Transition (EMT)

شامل تمرینات کوتاه مدت، شدت بالا و با استراحت کوتاه و یا کم شدت است از علایمی مانند خستگی پا و تهوع جلوگیری می‌کنند (۱۶). انجام تمرینات تناوبی همراه با افزایش قابل توجه ظرفیت هوازی، استقامت، کاهش وزن و عملکرد متابولیک قلب برای افراد مبتلا به سرطان بوده است (۱۷). تاکنون پژوهشی در رابطه با اثر تمرینات تناوبی بر مولکول‌های چسبان نظیر E-cadherin در دست نمی‌باشد و بیشتر مطالعات در حوزه ورزش و سرطان اغلب به بررسی سیگنال‌های مرتبط با رشد تومور، آنژیوژنز، آپوپتوز و التهاب پرداخته‌اند؛ و تعداد مطالعات انجام شده در حیطه متابولیزم و ورزش و به ویژه در بافت تومور سرطان پستان بسیار محدود است (۱۸). علاوه بر این داروهایی که به هدف درمان سرطان استفاده می‌گردند اغلب تک هدفه، با سمیت بالا و پرهزینه بوده. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تمرینات تناوبی بر بیان ژن E-cadherin در موش‌های مبتلا به سرطان پستان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی بوده که در آن تعداد ۲۰ سر موش بالب سی (Balb/c) ماده سه تا پنج هفته با محدوده وزنی 17 ± 0.18 گرم از موسسه پاستور کرج خریداری و به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردید. کلیه موش‌ها در شرایط کنترل شده‌ی محیطی، با میانگین دمای 3 ± 22 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۰٪، چرخه روشنایی-تاریکی کنترل شده ۱۲/۱۲ ساعت، و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش نگهداری شدند. پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه، موش‌ها به شکل تصادفی به چهار گروه پنج‌تایی تقسیم شدند:

گروه اول (گروه تمرین-سرطان-تمرین) (ETE): این گروه شامل پنج سر موش بالب-سی بود که پس از اتمام دوره شش هفته‌ای تمرین آماده سازی، با تزریق رده سلولی 4T1 سرطانی شده و مجدداً وارد برنامه تمرینی تناوبی شدند.

گروه دوم (گروه تمرین-سرطان-استراحت) (ETS) این گروه در تمرینات آماده سازی شرکت داشتند و پس از القای تومور و ابتلا به سرطان وارد برنامه تمرینی نشدند.

گروه سوم (گروه استراحت-سرطان-تمرین) (STE) این گروه تنها پس از القای تومور در برنامه تمرینی شرکت داده شدند.

گروه چهارم (گروه استراحت-سرطان-استراحت) (STS) این گروه در هیچ دوره‌ای از برنامه تمرینی شرکت نداشت و تنها القای سرطان بر روی آنها انجام گرفت.

پروتکل تمرینی این پژوهش شامل یک دوره آماده‌سازی^۸ و دوره تمرینی اصلی بود که به صورت تناوبی طراحی گردید (جدول ۱). لازم به ذکر است در دوره‌ی آشناسازی موش‌ها به صورت پنج روز در هفته و به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه با سرعت ۸ متر در دقیقه بر روی نوار گردان راه رفتند. پس از پایان دوره آشناسازی، آزمون‌های عملکردی و آزمون بیشینه جهت تعیین شدت تمرینی اجرا گردید و میانگین حداکثر سرعت به‌دست آمده به عنوان سرعت بیشینه پروتکل تمرینی در نظر گرفته شد. پروتکل تمرینی با ۵۰ و ۷۰ درصد سرعت بیشینه موش‌ها (شدت متوسط) در ۲۰ اینتروال‌های دو دقیقه‌ای اجرا شد.

در این پژوهش کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس به شماره IR.MODARES.REC.1397.264 در طول انجام تحقیق رعایت گردید. لازم به ذکر است در این آزمایش برای اجتناب از عوامل استرس‌زا، از شوک الکتریکی جهت تحریک موش‌ها به دویدن استفاده نگردید، و تنها در صورت نیاز از تحریکات صوتی استفاده می‌شد (۱۹-۲۱).

نحوه ایجاد تومور: جهت القای سرطان متاستاتیک پستان، از رده سلولی 4T1 استفاده گردید. سلول‌های 4T1 در محیط آزمایشگاهی و به منظور دستیابی به میزان مورد نیاز از سلول، کشت داده شدند. بعد از شمارش سلولی و اطمینان از رسیدن سلول‌ها به تعداد مورد نیاز، سوسپانسیون سلولی با تراکم 10^6 در هر میلی‌لیتر محلول نمک فسفات بافری (PBS)^۹ تهیه گردید. نهایتاً تعداد 10^6 سلول به هر سر موش Balb/c، به صورت زیر جلدی و به بالای دست سمت راست موش تزریق گردید.

پس از گذشت حدود ۱۰ روز از تزریق و پیدایش بافت توموری، هر هفته حجم تومور توسط کالیپر دیجیتال مورد

^۸ Preconditioning

^۹ Phosphate buffered saline

محاسبه قرار می گرفت. برای اندازه گیری حجم تومور از فرمول $V = \frac{1}{2} (L^2 \times W)$ استفاده شد.

جدول ۱: پروتکل تمرینی

پیش از القای تومور Preconditioning	دو هفته اول	دو هفته دوم	دو هفته سوم
سرعت: ۲۰-۱۵	سرعت: ۲۵-۲۰	سرعت: ۳۰-۲۵	
مدت: ۲۰ اینتروال ۲ دقیقه ای	مدت: ۲۰ اینتروال ۲ دقیقه ای	مدت: ۲۰ اینتروال ۲ دقیقه ای	
پس از القای تومور	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم
سرعت: ۳۰-۲۵	سرعت: ۲۰-۲۵	سرعت: ۲۰-۱۵	سرعت: ۱۵-۱۰
مدت: ۱۵ اینتروال ۲ دقیقه ای	مدت: ۱۵ اینتروال ۲ دقیقه ای	مدت: ۱۵ اینتروال ۲ دقیقه ای	مدت: ۱۵ اینتروال ۲ دقیقه ای

Applied Biosystems) استفاده شد. توالی پرایمر فوروارد و ریورز ژن E-cadherin و بتا کاتین که به عنوان ژن رفرنس مورد استفاده قرار گرفت در جدول ۲ آمده است.

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف^{۱۰} (KS) و برای بررسی تجانس واریانس ها از آزمون لون^{۱۱} استفاده گردید. با توجه به رد شدن فرضیه نرمال بودن داده ها برای بررسی تفاوت بین گروهی و تاثیر مداخله تمرینی از آزمون آماری ناپارامتریک کروسکال والیس^{۱۲} استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS20 انجام شد و سطح معناداری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۲: توالی پرایمرها

Gene Name	Sequence (5' → 3')
E-CadherinmusF	CTGCTGCTCCTACTGTTTCTACG
E-CadherinmusR	TGGCTCAAATCAAAGTCCTGGTC
ACTBmusF	GGCTGTATTCCCTCCATCG
ACTBmusR	CCAGTTGGTAACAATGCCATGT

یافته ها

گزارش متغیرهای بررسی شده در این پژوهش در ذیل به صورت جدول و نمودار ارائه شده اند. نتایج تجزیه و تحلیل آماری وزن موش ها تفاوت معناداری را در بین گروه ها نشان نداد ($p=0.3$). از سوی دیگر وزن نسبی قلب در گروه STS که در برنامه تمرینی شرکت نداشتند از

بر این اساس حجم تومور در دو بعد اندازه گیری شد؛ بدین صورت که بزرگ ترین بعد تومور به عنوان طول (L) تومور و بعد دیگر در زاویه ۹۰ درجه به عنوان عرض (W) تومور در نظر گرفته شد (۲۲).

استخراج و نگهداری بافت: ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش ها از تمامی گروه ها از طریق تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (۹۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) بیهوش و قربانی شدند. بلافاصله پس از بیهوشی بافت تومور جهت بررسی بیان ژن E-cadherin تحت شرایط استریل جدا گردید و سپس در نیتروژن مایع منجمد شد. بافت طحال، کبد و قلب برای بررسی غیرمستقیم التهاب سیستمیک و سازگاری با تمرین، وزن گردیدند. نمونه های بافتی تا زمان اندازه گیری در فریزر منفی ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

سنجش بیان ژن: برای استخراج total RNA بافت تومور به نسبت یک به ده در QIAzol Lysis reagent هموژن گردید. و پروتکل طبق دستور شرکت کایژن اجرا گردید. اینتگریتی RNA توسط الکتروفورز با استفاده از آگارز ایتیدیوم بروماید ۱٪ مورد سنجش قرار گرفت و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از ۱ میکروگرم از RNA و با استفاده از random hexamer prime و آنزیم transcriptase Mmulv Reverse انجام گرفت و در دمای منفی ۲۰ نگهداری شد. برای اندازه گیری بیان نسبی mRNA توسط روش real-time PCR، از دستگاه AB stepone plus

¹⁰ Kolmogorov smirnov

¹¹ Leven

¹² kruskal wallis

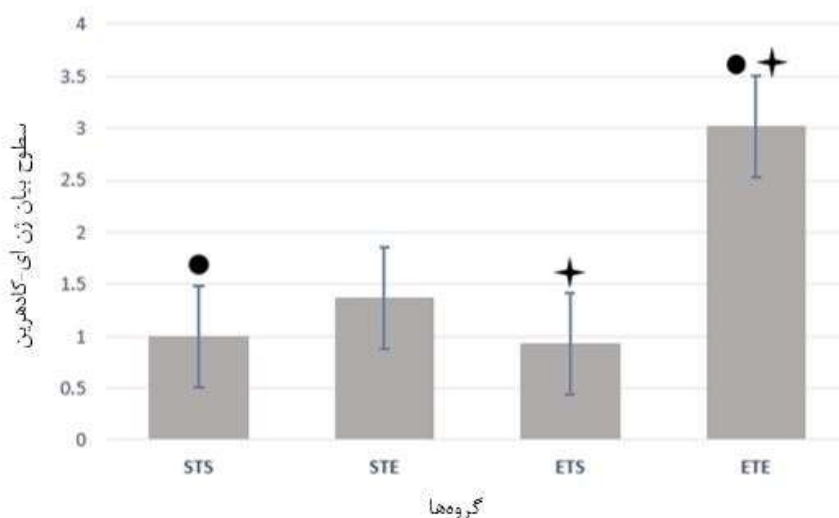
از سوی دیگر تجزیه و تحلیل آماری بیان ژن E-cadherin تفاوت معناداری را در بین گروه‌ها نشان داد ($P=0.01$). این تفاوت معنادار بین دو گروه STS و ETE ($p=0.03$) و همچنین ETS و ETE ($p=0.04$) وجود داشت؛ که این مقدار در گروه ETE به‌طور معناداری بالاتر می‌باشد (نمودار ۱). همچنین نتایج تجزیه و تحلیل آماری بیان ژن E-cadherin تفاوت معناداری را در بین گروه‌ها نشان داد ($P=0.01$). آزمون کروسکال وایس تفاوت معنادار بین دو گروه STS و ETE ($p=0.03$) و همچنین ETS و ETE ($p=0.04$) مشخص نمود؛ که این مقدار در گروه ETE به‌طور معناداری بالاتر می‌باشد (نمودار ۱).

دیگر گروه‌ها کمتر بود اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P=0.15$). به منظور سنجش غیرمستقیم التهاب سیستمیک از اندازه‌گیری وزن نسبی طحال و کبد استفاده شد که آنالیز آماری آن‌ها تفاوت معنی‌دار بین گروه STS و ETE را هم در وزن طحال و هم در وزن کبد نشان می‌دهد؛ به علاوه در مورد وزن کبد تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های ETE و ETS وجود دارد؛ که نشان از التهاب سیستمیک در گروه STS می‌باشد. در رابطه با حجم تومور تفاوت معنادار بین گروه‌های ETE و STS وجود داشت ($p=0.00$). در جدول ۳ اطلاعات مربوطه به این متغیرها ارائه شده است. علایم موجود در هر سلول نشان دهنده معنادار بودن تفاوت با علامت یکسان در همان ردیف است.

جدول ۳: نتایج تحلیل آماری متغیرهای وزن بدن، وزن نسبی قلب، وزن نسبی طحال، وزن نسبی کبد و حجم تومور

متغیر / گروه‌ها	STS	STE	ETS	ETE	سطح معنی‌داری
وزن بدن (گرم)	۱۹/۴±۲/۶۴	۲۱/۵۲±۱/۱۳	۲۱/۰۵±۰/۵۴	۲۱/۱۷±۱/۲۴	۰/۴
وزن نسبی قلب (میلی گرم/گرم)	۴/۰±۲۳/۴۴	۴/۰±۸۶/۲۷	۴/۵۱±۰/۰۲	۵/۰۹±۰/۱۷	۰/۱۵
وزن نسبی طحال (میلی گرم/گرم)	۵/۹۲±۰/۶۰	۴/۸۷±۰/۱۳	۵/۱۱±۰/۳۴	۴/۶۶±۰/۱۳	۰/۰۰۸
وزن نسبی کبد (میلی گرم/گرم)	۶۶/۱۶±۱۱/۹۹	۵۵/۰۲±۲/۴۵	۶۵/۷۸±۵/۶۰	۱۵/۳۰±۱/۶۱	۰/۰۴
حجم تومور (میلی متر مکعب)	۶۳/۳۴±۱۱/۷۸	۱۹/۱۲±۱۲/۱۸	۴۵/۷۳±۱۵/۶۴	۷/۵۲±۱/۰۲	۰/۰۰۰

علایم موجود در هر سلول نشان‌دهنده معنادار بودن تفاوت، با علامت یکسان در همان ردیف است



نمودار ۱: سطوح بیان ژن E-cadherin در گروه‌ها. علامت دایره نشان‌دهنده اختلاف گروه STS (استراحت - سرطان - استراحت) با ETE (تمرین - سرطان - تمرین) و علامت ستاره نشان‌دهنده اختلاف معنادار ETS (تمرین - سرطان - استراحت) با ETE (تمرین - سرطان - تمرین) می‌باشد

بحث

در مطالعه پیش رو به بررسی اثر تمرینات تناوبی بر بیان ژن E-cadherin به عنوان یک ژن اپی تلیال و سرکوبگر تومور پرداخته شد. فرآیند متاستاز و EMT با انواعی از مسیره‌های پیام‌رسانی نظیر TGF- β , PDGF, EGF, Wnt/ β -catenin, سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-6, IL-8 و TNF- α تنظیم می‌شود و فعال‌سازی این عوامل به مهار بیان ژن‌های اپی تلیالی می‌انجامد (۲۳، ۲۴). در پژوهش حاضر بیان ژن E-cadherin پس از اجرای ۱۰ هفته تمرین تناوبی در گروه ETE (شش هفته قبل و چهار هفته پس از القای تومور) به طور معناداری نسبت به گروه STS که هیچ‌گونه مداخله تمرینی نداشت ($p=0.03$) و گروه ETS که پس از القای تومور از پروتکل تمرینی خارج شد ($p=0.04$) افزایش داشت. که بیانگر کاهش معنادار بیان ژن E-cadherin در گروه‌های بدون مداخله تمرینی است. به عبارتی می‌توان تمرین تناوبی را به عنوان یک راهکار درمانی در جلوگیری از پیشروی سرطان دانست؛ چرا که تمرین تناوبی توانسته، بیشترین اثر خود را پس از ابتلای موش‌ها به سرطان داشته باشد؛ تفاوت معنادار با گروه‌هایی که ۶ هفته تمرین آماده‌سازی تناوبی پیش از القای تومور داشتند مشاهده نشده است.

تاکنون پژوهشی در زمینه تاثیر تمرین تناوبی بر بیان ژن E-cadherin صورت نپذیرفته؛ اما نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه ژانگ و همکاران (۲۰۱۵) که تاثیر تمرینات تداومی را بر بیان این ژن بررسی کردند، همخوانی دارد. آن‌ها اظهار داشتند تمرینات شدت متوسط در موش‌های مبتلا به سرطان به طور معناداری بیان E-cadherin را افزایش، TGF- β و حجم تومور را کاهش می‌دهد. درحالی‌که تمرینات شدت بالا یا مدت بالا تاثیری همراه با نتایج معکوس دارد (۲۵).

سازوکار اثر تمرینات ورزشی بر بیان ژن E-cadherin هنوز به طور دقیق مشخص نگردیده است؛ ولی با بررسی و مرور مطالعات می‌توان برخی مکانیزم‌های احتمالی را برشمرد. در تعدادی از مطالعات نقش سایتوکاین‌ها به عنوان میانجی التهابی EMT به طور گسترده بیان شده است (۲۳، ۲۶). به طوری‌که یک برنامه تمرینی منظم می‌تواند از طریق مهار یا فعال‌سازی برخی از این سایتوکاین‌ها سبب تغییرات بیان ژن E-cadherin شود.

TGF- β از جمله بیومارکرهایی است که E-cadherin را هدف قرار داده و از این طریق EMT را تحریک می‌کند (۲۷). شواهد آشکاری در دست است که نشان می‌دهند بیان ژن TGF- β باعث افزایش بیان E-cadherin می‌شود (۲۳). از طرفی مطالعه‌ی دیگری که به بررسی تاثیرات تمرینات ورزشی بر TGF- β پرداخته، نشان می‌دهد تمرینات تناوبی و تمرینات هوازی می‌توانند بیان TGF- β را در تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان کاهش می‌دهد (۲۸). پالنا و همکاران (۲۰۱۲) نیز اثر کاهنده تمرین ورزشی را بر بیان ژن TGF- β نشان دادند (۲۶). همچنین مورفی و همکاران (۲۰۰۴)، اثر تمرینات شدت متوسط را در کاهش متاستاز ریوی در موش‌های سرطانی مشاهده کردند، که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۲۹-۳۱).

با توجه به مطالعات انجام شده، تمرینات تناوبی با شدت متوسط به علت داشتن استراحت بین تناوب‌های تمرینی در بیماران سرطانی که آستانه تحمل زمانی کمتری را نسبت به افراد سالم دارا می‌باشند، می‌تواند از اثرات مثبت فعالیت بدنی بهره‌مند شده و با افزایش ظرفیت قلبی-تنفسی، فعال شدن عضلات و در پی آن تولید بیومارکرهای مرتبط، به فعال شدن مسیره‌های پیام‌رسان مرتبط و تولید و ترشح سایتوکاین‌های ضدالتهابی مرتبط گردند.

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که رشد حجم تومور در دو گروه ETE و STE نسبت به گروه ETS گروه کنترل STS، به طور قابل توجهی کمتر است. به طوری که میانگین حجم تومور در هفته چهارم در گروه STS در حدود ۸/۵ برابر حجم تومور در گروه ETE بود ($p \leq 0.05$). همچنین در نتایج مشخص شد در دو گروه ETS و ETE که قبل از سرطانی شدن ۶ هفته تمرینات تناوبی داشتند، نسبت به گروه کنترل STS که هیچ تمرینی نداشت و گروه STE که تنها بعد از سرطانی شدن ۴ هفته تمرین داشت، حجم تومور به طور معناداری کمتر بود ($p \leq 0.05$).

نتایج حاصل از حجم تومور نشان می‌دهند که تمرینات تناوبی باعث کاهش حجم تومور شده و با توجه به اختلاف بین گروهی اینگونه می‌توان اظهار داشت که ورزش نتوانسته نقش پیشگیرانه داشته باشد؛ اما می‌تواند به عنوان راهکار درمانی پس از ابتلا به سرطان مورد توجه

موش‌های مبتلا به سرطان پستان انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد تمرینات تناوبی به عنوان یک راهبرد غیردارویی باعث تعدیل بیان ژن سرکوبگر تومور، تهاجم توموری، متاستاز و التهاب سیستمیک می‌شود و حتی روند پیشروی بیماری و متاستاز را معکوس می‌کند. شایان ذکر است که پژوهش‌های محدودی در زمینه‌ی بررسی اثر تمرینات ورزشی و به‌طور خاص تمرینات تناوبی بر بیان ژن E-cadherin به عنوان یک سرکوبگر تومور، حجم تومور و التهاب سیستمیک پرداخته‌اند؛ که این امر تفسیر نتایج در این زمینه را دشوار می‌کند. لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی فاکتورها و دیگر عوامل درگیر در فرآیند متاستاز برای روشن شدن مکانیسم اثر، مورد ارزیابی قرار گیرند.

تعارض منافع

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

قرار گیرد. این نتایج همسو با نتایجی است که از دیگر مطالعات در دست می‌باشد (۱۶، ۲۲). رنجبر و همکاران (۲۰۱۸)، کاهش حجم تومور را در موش‌های با سرطان پستان پس از شرکت در پروتکل تمرینات تناوبی و استفاده از نانوذره سلنیوم گزارش کردند (۲۱). از سوی دیگر در پژوهش حاضر وزن طحال و کبد به نسبت وزن بدن مورد بررسی قرار گرفت که می‌تواند نمایانگر غیر مستقیم التهاب سیستمیک باشد (۳۱). نتایج پژوهش ما نشان داد که التهاب سیستمیک به طور معناداری در گروه ETE در مقایسه با گروه کنترل STS که مداخله تمرینی نداشت، کمتر بوده ($P \leq 0.05$). همسو با نتایج حاضر مطالعاتی در دست می‌باشد که کاهش التهاب سیستمیک را پس از یک دوره تمرینات تناوبی نشان می‌دهد (۱۶، ۲۱).

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر تمرینات تناوبی بر بیان ژن سرکوبگر تومور، التهاب سیستمیک و حجم تومور در

References

1. Momenimovahed Z, Salehiniya H, Therapy. epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer: Targets*. 2019;11:151-64.
2. Enayatrada M, Amoori N, Salehiniya H. Epidemiology and trends in breast cancer mortality in iran. *Iranian journal of public health*. 2015; 44(3):430-1.
3. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011; 144(5):646-74.
4. Sporn MB. The war on cancer. *Lancet*. 1996; 347 (9012): 1377-81.
5. Cavallaro U, Christofori G. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2004; 4(2):118-32.
6. Berx G, van Roy F. Involvement of members of the cadherin superfamily in cancer. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2009; 1(6): 129-12.
7. Felipe Lima J, Nofech-Mozes S, Bayani J, Bartlett JM. EMT in Breast Carcinoma-A Review. *J Clin Med*. 2016;5(7):65-18.
8. Katoh M. Therapeutics Targeting FGF Signaling Network in Human Diseases. *Trends Pharmacol Sci*. 2016; 37(12):1081-96.
9. Lee I-M. Physical activity and cancer prevention--data from epidemiologic studies. *Medicine science in sports exercise*. 2003;35(11):1823-7.
10. Younis LK, El Sakka H, Haque I. The Prognostic Value of E-cadherin Expression in Breast Cancer. *International journal of health sciences*. 2007; 1(1):43-51.
11. Rakha EA, Abd El Rehim D, Pinder SE, Lewis SA, Ellis IO. E-cadherin expression in invasive non-lobular carcinoma of the breast and its prognostic significance. *Histopathology*. 2005; 46(6): 685-93.
12. Liu J, Sun X, Qin S, Wang H, Du N, Li Y, Pang Y, Wang C, Xu C, Ren H. CDH1 promoter methylation correlates with decreased gene expression and poor prognosis in patients with breast cancer. *Oncology letters*. 2016;11(4): 2635-43.
13. Sadeghipour F, Gharakhanlou R, Movahedin M, Rahmati M. The effect of continues endurance training on the gene expression of GSK-3 β in

- the sensory areas of the spinal cord of male wistar rats with diabetic neuropathy. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2015; 15(1):9-18.
14. Ruiz-Casado A, Martin-Ruiz A, Perez LM, Provencio M, Fiuza-Luces C, Lucia A. Exercise and the Hallmarks of Cancer. *Trends Cancer*. 2017; 3(6):423-41.
 15. Ju J, Nolan B, Cheh M, Bose M, Lin Y, Wagner GC, Yang CS. Voluntary exercise inhibits intestinal tumorigenesis in Apc(Min/+) mice and azoxymethane/dextran sulfate sodium-treated mice. *BMC cancer*. 2008;8(1):316-27.
 16. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of physiology*. 2012; 590(5): 1077-84.
 17. Meyer K, Samek L, Schwaibold M, Westbrook S, Hajric R, Lehmann M, Eßfeld D, Roskamm H. Physical responses to different modes of interval exercise in patients with chronic heart failure-application to exercise training. *European heart journal*. 1996; 17(7):1040-7.
 18. Ashcraft KA, Peace RM, Betof AS, Dewhirst MW, Jones LW. Efficacy and Mechanisms of Aerobic Exercise on Cancer Initiation, Progression, and Metastasis: A Critical Systematic Review of In Vivo Preclinical Data. *Cancer Res*. 2016; 76(14):4032-50.
 19. Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Molecular metabolism*. 2015; 4(12):903-15.
 20. Barra NG, Fan IY, Gillen JB, Chew M, Marcinko K, Steinberg GR, Gibala MJ, Ashkar AA. High Intensity Interval Training Increases Natural Killer Cell Number and Function in Obese Breast Cancer-challenged Mice and Obese Women. *J Cancer Prev*. 2017; 22(4):260-6.
 21. Ranjbar K, Agha Alinejad H, Shahbazi S, Molanouri Shamsi M. Interval Aerobic Exercise and Selenium Nanoparticle Stimulate Autophagy in Mice with cancer Cachexia. *Int J Cancer Oncol*. 2018; 5(1)35-40.
 22. Faustino-Rocha A, Oliveira PA, Pinho-Oliveira J, Teixeira-Guedes C, Soares-Maia R, da Costa RG, Colaco B, Pires MJ, Colaco J, Ferreira R, Ginja M. Estimation of rat mammary tumor volume using caliper and ultrasonography measurements. *Lab Anim (NY)*. 2013;42(6): 217-24.
 23. Massagué J. TGFβ in cancer. *Cell*. 2008; 134(2): 215-30.
 24. Toiyama Y, Yasuda H, Saigusa S, Tanaka K, Inoue Y, Goel A, Kusunoki M. Increased expression of Slug and Vimentin as novel predictive biomarkers for lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Carcinogenesis*. 2013; 34(11):2548-57.
 25. Zhang Q, Zhang B, Zhang K, Meng X, Jia Q, Bu Y, Zhu X, Ma D, Ye B, Zhang N. Moderate swimming suppressed the growth and metastasis of the transplanted liver cancer in mice model: with reference to nervous system. *Oncogene*. 2016; 35(31):4122.
 26. Palena C, Hamilton DH, Fernando RI. Influence of IL-8 on the epithelial-mesenchymal transition and the tumor microenvironment. *Future oncology*. 2012;8(6):713-22.
 27. Wendt MK, Allington TM, Schiemann WP. Mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition by TGF-β. *Future Oncology*. 2009; 5(8): 1145-68.
 28. Moghaddam V, Peeri M, Azarbayjani MA, Matin Homaei H. Comparison of protective effect of two types of aerobic and intermittent training on breast cancer by TGFβ protein and Smad-3 gene and MMP2 in female mice. *Hormozgan Medical Journal*. 2017;21(1):53-64.
 29. Medeiros A, Oliveira EMd, Gianolla R, Casarini DE, Negrão C, Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. *Brazilian Journal of Medical Biological Research*. 2004;37(12): 1909-17.
 30. Terada S, Tabata I, Higuchi M. Effect of high-intensity intermittent swimming training on fatty acid oxidation enzyme activity in rat skeletal muscle. *The Japanese journal of physiology*. 2004;54(1):47-52.
 31. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux T, McClellan J, Steiner J, Carmichael M, Pena MM, Hébert JR, Green J. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine*. 2011;55(2):274-9.