

Original Article

Comparing the Effect of Two Exercise Training Programs, Aerobic Exercise and High Intensity Interval Training, on the Expression of Galectin-1 and Galectin-3 genes in the Tumor Tissue of Female BALB/c Mice with Breast Cancer

Sheyda Rajabi kashani¹, Reza Nouri^{2*}, Abas Ali Gaeini³, Siroos Choobineh³

¹Department of Sport Sciences, University of Tehran, Kish International Campus, Kish, Iran

²Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Kish International Campus, Kish, Iran

³Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran

Abstract

Introduction: New studies show that inhibiting the growth of tumors by reducing the expression of angiogenesis factors in various ways, including sports activity, can be a valuable method in controlling the progress of cancer. Galectin-1 and galectin-3 play a vital role in inducing and maintaining tumor angiogenesis. The present research aimed to compare the effect of two selected exercise programs on the expression of galectin-1 and galectin-3 genes in the tumor tissue of female balb-c mice with breast cancer.

Methods: Twenty-four female balb-c mice were infected with breast tumor by injection of MC4L2 estrogen receptor dependent cancer cells. Then, they were divided into three groups of eight: tumor (T), tumor + aerobic exercise (T+AE), and tumor + high intensity interval training (T+HIIT). The T+AE group performed an aerobic exercise protocol for six weeks, five days a week, and each session lasted 60 minutes. The T+HIIT group performed high intensity interval training protocol three days a week for six weeks, and each session lasted 60 minutes. Finally, mice were anesthetized by injecting ketamine and xylazine, the tumor tissue was removed and frozen in liquid nitrogen. The expression of galectin-1 and galectin-3 was measured by Real Time-PCR method, and the results were expressed as fold change at a significant level ($P < 0.05$) with GENEX software.

Results: The results showed that the aerobic exercise protocol had no significant effect on the expression of galectin-1 in the T+AE group, compared to the T group, while it decreased the expression of galectin-3 by 1.70 times ($P = 0.00$). In the T+HIIT group, compared to the T group, the expression of galectin-1 decreased 3.04 times ($P = 0.00$), and the expression of galectin-3 decreased 6.57 times ($P = 0.00$). In the T+HIIT group, compared to the T+ group, AE, the expression of galectin-1, decreased 2.58 times ($P = 0.00$), and the expression of galectin-3 decreased 3.86 times ($P = 0.00$).

Conclusion: Aerobic exercise by reducing the expression of galectin-3 and high intensity interval training by reducing the expression of galectin-1 and galectin-3 are effective in preventing the progression of breast cancer.

Keywords

Breast Cancer, Aerobic Exercise, High Intensity Interval Training, Galectin-1, Galectin-3.

Received: 2023/08/16
Accepted: 2023/10/07

*Corresponding Author:
nuri_r7@ut.ac.ir

Ethics Approval:
IR.SSRC.REC.1401.103



Introduction

Tumor angiogenesis is considered one of the hallmarks of cancer and an attractive target for cancer therapy (1). Recently, it has been revealed that galectins contribute to the activation of endothelial cells and other steps of angiogenesis pathways. For this reason, in the last decade, galectins have been considered as target molecules for the treatment of cancers (2). In addition to the importance of galectins in all stages of tumor angiogenesis, galectins, especially GAL-1 and GAL-3, maintain tumor cell proliferation, escape from growth suppressors, resist cell death, protect tumor cells during replication, and induce metastasis. GAL-1 and GAL-3 are involved in increasing the metabolic ability and energy supply of tumor cells, genomic instability and mutation, inducing inflammation and helping tumor cells to escape from immune responses (2). Despite the great importance of GAL-1 and GAL-3 in all stages of tumor growth, no research has been done on the effect of sports activities on these factors in tumor tissue. Therefore, this study attempted to compare the effect of six weeks of aerobic exercise and high intensity interval training on the expression of GAL-1 and GAL-3 in the tumor tissue of female mice with breast cancer.

Materials and Methods

Twenty-four female balb-c mice aged 5-6 weeks with an average weight of 20 grams were infected with mammary tumors by injecting MC4L2 estrogen receptor-dependent cancer cells. Before the injection of cancer cells, in order to anesthetize the mice, the combination of xylazine and ketamine (dose of ketamine 80 mg per kg of body weight + xylazine dose of 10 mg per kg of body weight) was injected subcutaneously (3). Then, the mice were randomly divided into three groups with eight mice in each group: tumor (T) (breast cancer tumor creation), tumor group + aerobic exercise (T+AE) (breast cancer tumor creation and aerobic exercise), and tumor group + high-intensity interval training (T+HIIT) (creating breast cancer tumor and

performing high-intensity interval training). Mice in T+AE group performed aerobic exercise incrementally for six weeks/five days per week. In the first week, mice ran on the treadmill at a speed of 6 to 14 m/min for 33-45 minutes; in the second week, the mice ran faster and longer at a speed of 8 to 16 m/min for 48 to 60 minutes, and in the third to sixth week, mice were subjected to 60 minutes of treadmill running at a speed of 10 to 20 m/min/. (The exercise protocol was performed at the average speed of 14 and 18 meters per minute in the first and last half hour, respectively.) Mice in the T+HIIT group performed high-intensity interval training in the form of treadmill running for 60 minutes, six weeks, three days per week. The training session started with 2 minutes of running at the maximum speed obtained in the exercise capacity test, and after each 2 minutes of running, 2 minutes of rest was performed. In the first week, the mice ran for 2 minutes at maximum speed, and after 2 minutes of rest, they ran on the treadmill for 60 minutes at a speed of 15 m/min in intervals of 2 minutes of exercise and 2 minutes of rest. The speed of the exercise was increased by 1 m/min each week (5). All study groups, after 12 to 14 hours of fasting (48 hours after the last exercise session) under the same conditions, were rendered unconscious by injection of ketamine and xylazine, and the tumor tissue of the mice was removed. The tumor was then divided into smaller pieces, immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -70. After extracting RNA, synthesizing cDNA, and performing Real Time-PCR steps, the expression levels of GAL-1 and GAL-3 were measured. The results were expressed as fold change at a significant level ($P < 0.05$) with GENEX software.

Results

The research findings show that in the T+AE group, compared to the T group, the expression of GAL-1 was not significantly different; in contrast, the expression of GAL-3 was significantly decreased by 1.70 times (Tables

1, 2 and Graphs 1 and 2). In the T+HIIT group, compared to the T group, the expression of GAL-1 decreased by 3.04 times (significant), and the expression of GAL-3 decreased by 6.57 times (significantly) (Tables 1, 2 and Graphs 1 and 3)). In the T+HIIT group,

compared to the T+AE group, the expression of GAL-1 decreased by 2.58 times (significant), and the expression of GAL-3 decreased by 3.86 times (significantly) (Tables 1, 2, Graphs 1 and 4).

Table 1: Mean values and standard deviation ($-\Delta\Delta CT$) of research variables

	Gal-1	Gal-3
Tumor (T)	0.00±0.11	0.00±0.05
Tumor + Aerobic exercise (T+AE)	0.23±0.09	-0.76±0.10
Tumor + High-intensity interval training (T+HIIT)	0.60±0.19	-2.71±0.25

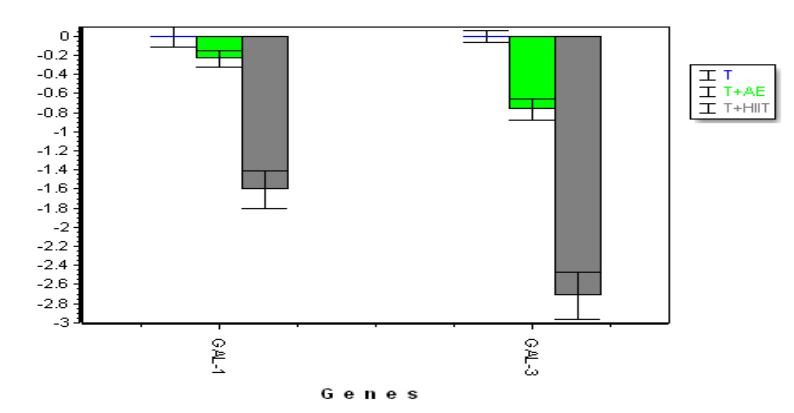
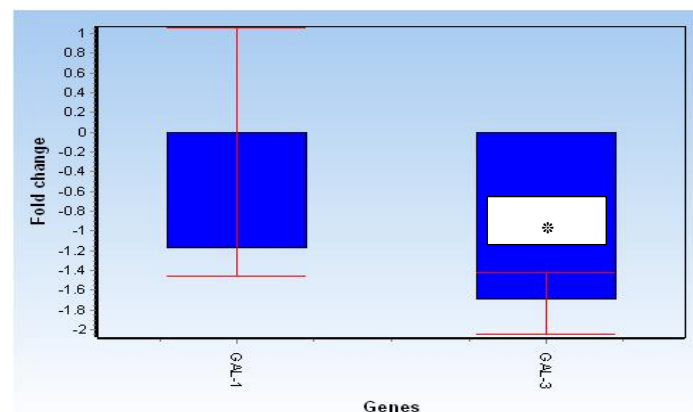


Fig 1: Mean values and standard deviation ($-\Delta\Delta CT$) of research variables

Table 2: The ratio of expression of variables (Fold Change) in the group of tumor + aerobic (T + AE) and the group of tumor + high intensity interval training (T + HIIT) compared to the group of tumor (T), the ratio of expression of variables (Fold Change) in the group of tumor + high intensity interval training (T+HIIT) compared to tumor + aerobic (T+AE) group, p value of one-way analysis of variance and the result of changes in research variables.

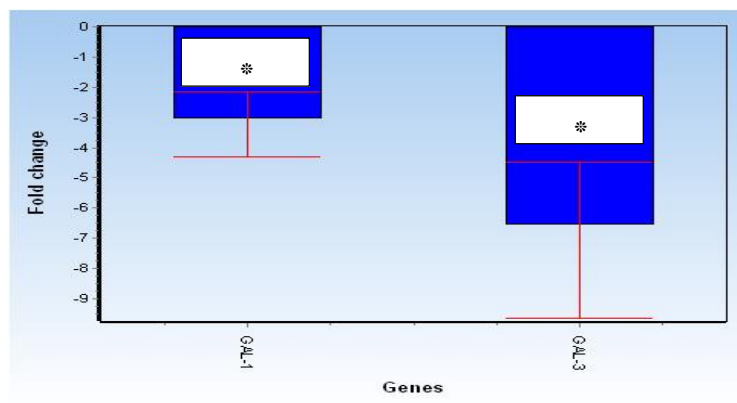
	Gal-1	Gal-3
Fold change of the tumor + aerobic (T + AE) group, compared to the tumor (T) group	-1.17	-1.70
Fold change of the tumor + high-intensity interval training (T + HIIT) group, compared to the tumor (T) group	-3.04	-6.57
Fold change of the tumor + high-intensity interval training (T + HIIT) group, compared to the tumor + aerobic (T + AE) group	-2.58	-3.86
P	0.00*	0.00*
Result	significant difference	Significant difference

* indicates the significance of the difference ($P < 0.05$).



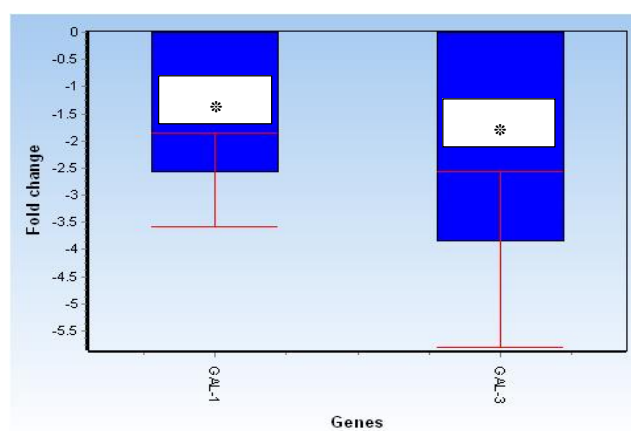
* indicates the significance of the difference ($P < 0.05$)

Fig 2: Expression ratio of variables in the tumor+aerobic group (T+AE), compared to the tumor group (T) (Fold Change)



* indicates the significance of the difference ($P < 0.05$).

Fig 3: The expression ratio of variables in the tumor + high-intensity interval training group (T + HIIT), compared to the tumor group (T) (Fold Change)



* indicates the significance of the difference ($P < 0.05$).

Fig 4: The expression ratio of variables in tumor + high-intensity interval training group (T + HIIT), compared to the tumor + aerobic group (T + AE) (Fold Change)

Discussion

There are very few studies investigating the effect of exercise activity on the expression of GAL-1 and GAL-3 in the tumor tissue of cancer patients; however, the present study is probably the first study that investigated the effect of exercise activity on the expression of GAL-1 and GAL-3 in the tumor tissue. Although the mechanism of the effect of exercise activity on tumor angiogenesis and tumor tissue is not fully understood, it is known that the tumor has a heterogeneous environment with variable blood flow and shear stress (The endothelium of tumor vessels is exposed to acid and hypoxia conditions due to the rapid proliferation of tumor cells, which lead to an increase in the production of pro-angiogenic factors), and exercise may have a direct effect on tumor physiology through the redistribution of cardiac output. Research on rats with prostate cancer has shown that tumor blood flow increases during exercise by almost 200% compared to the inactive group and leads to a 50% reduction in hypoxia in the

tumor vessels that may be the consequence of the simultaneous reduction of the receptors related to vasoconstriction (especially the reduction of alpha-adrenergic receptor) and the reduction of myogenic tone (the tone resulting from intense intravascular pressure) (6). Aerobic exercise and high-intensity interval training will have different effects on tumor blood flow and tumor hypoxia conditions; therefore, comparing the impact of these two types of exercise training on the expression of GAL-1 and GAL-3 in tumor tissue will provide valuable information to identify the best type of exercise for breast cancer patients. Galectin expression is induced under hypoxia. In addition, extracellular matrix components and factors secreted by tumor cells or inflammatory cells can affect endothelial galectin expression. For example, interferon-gamma can induce the expression of GAL-1, and Interleukin-1 beta induces the expression of endothelial GAL-1 and GAL-3 (7). As a result, if the type and intensity of exercise lead to an increase in tumor blood flow,

and, subsequently, a decrease in hypoxia and acidosis in the tumor vessels, it may cause a decrease in the expression of GAL-1 and GAL-3 and other pro-angiogenic factors. The results showed that the high-intensity interval training protocol reduced the expression of GAL-1 and GAL-3 (GAL-1 expression, 2.58 times reduction and GAL-3 expression, 3.86 times reduction), compared to the aerobic exercise protocol group. It appears that high-intensity interval training, compared to an aerobic training exercise, caused a greater increase in the blood flow of tumors and a reduction in hypoxia. Moreover, it has been more effective in reducing the expression of GAL-1 and GAL-3.

Conclusion

According to the findings, aerobic exercise training led to a reduction in the expression of GAL-3, and high-intensity interval exercise training led to a reduction in the expression of angiogenesis factors GAL-1 and GAL-3. Therefore, these two training protocols could be considered as strategies to reduce tumor angiogenesis and tumor growth in breast cancer.

References

1. Griffioen AW, Thijssen VL. Galectins in tumor angiogenesis. *Annals of translational medicine*. 2014;2(9):90.
2. Girotti MR, Salatino M, Dalotto-Moreno T, Rabinovich GA. Sweetening the hallmarks of cancer: Galectins as multifunctional mediators of tumor progression. *The Journal of experimental medicine*. 2020;217(2).
3. 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. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2014;17(4):231.
4. Schebeleski-Soares C, Occhi-Soares RC, Franzoi-de-Moraes SM, et al. Preinfection aerobic treadmill training improves resistance against *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009;34(4):659-665.
5. Marcinko KA, Sikkema SA, Samaan CO, et al. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Molecular metabolism*. 2015;4(12):903-915.
6. Wragg JW, Durant S, McGettrick HM, Sample KM, Egginton S, Bicknell R. Shear stress regulated gene expression and angiogenesis in vascular endothelium. *Microcirculation*. 2014;21(4):290-300.
7. Zhao XY, Chen TT, Xia L, Guo M, Xu Y, Yue F, et al. Hypoxia inducible factor-1 mediates expression of galectin-1: the potential role in migration/invasion of colorectal cancer cells. *Carcinogenesis*. 2010;31(8):1367-75.

مقایسه تأثیر دو برنامه تمرین ورزشی هوازی و تناوبی خیلی شدید بر بیان ژن‌های گالکتین-۱ و گالکتین-۳ در بافت تومور موش‌های ماده balb-c مبتلا به سرطان پستان

شیدا رجبی کاشانی^۱، رضا نوری^{۲*}، عباسعلی گائینی^۳، سیروس چوبینه^۳

^۱گروه علوم ورزشی، دانشگاه تهران پردیس بین‌المللی کیش، کیش، ایران

^۲گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران پردیس بین‌المللی کیش،

کیش، ایران

^۳گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: مطالعات جدید نشان می‌دهد مهار رشد تومورها، با کاهش بیان فاکتورهای آنژیوژنزی به روش‌های گوناگون از جمله فعالیت ورزشی، می‌تواند روش ارزشمندی در کنترل پیشرفت بیماری سرطان باشد. گالکتین-۱ و گالکتین-۳ در القا و حفظ آنژیوژن تومور نقش مهمی دارد. هدف از این پژوهش، مقایسه تأثیر دو برنامه تمرین ورزشی منتخب بر بیان گالکتین-۱ و گالکتین-۳ در بافت تومور موش‌های ماده balb-c مبتلا به سرطان پستان بود.

روش بررسی: ۲۴ سر موش ماده balb-c، با تزریق سلول‌های سرطانی وابسته به گیرنده استروژن MC4L2، مبتلا به تومور پستان شدند. سپس به سه گروه هشت‌تایی تومور (T)، تومور+تمرین هوازی (T+AE) و تومور+تمرین تناوبی خیلی شدید (T+HIIT) تقسیم شدند. گروه T+AE، ۶ هفته، ۵ روز در هفته و هر جلسه ۶۰ دقیقه، پروتکل تمرین هوازی را اجرا کردند. گروه T+HIIT، ۳ روز در هفته به مدت ۶ هفته و هر جلسه ۱ ساعت، پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید را اجرا کردند. در انتها، موش‌ها با تزریق کتامین و زایلوزین بی‌هوش شدند، بافت تومور برداشته و در نیتروژن مایع فریز شدند. بیان گالکتین-۱ و گالکتین-۳ به روش Real time-PCR سنجیده شد و نتایج به صورت Fold change در سطح معناداری ($P < 0/05$) با نرم‌افزار GENEX بیان شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد پروتکل تمرین هوازی در گروه T+AE، تأثیر معناداری بر بیان گالکتین-۱ در مقایسه با گروه T نداشت ولی باعث کاهش ۱/۷۰ برابری بیان گالکتین-۳ ($P = 0/00$) شد. در گروه T+HIIT در مقایسه با گروه T، بیان گالکتین-۱، ۳/۰۴ برابر کاهش ($P = 0/00$) و بیان گالکتین-۳، ۶/۵۷ برابر کاهش ($P = 0/00$)، در گروه T+HIIT در مقایسه با گروه T+AE، بیان گالکتین-۱، ۲/۵۸ برابر کاهش ($P = 0/00$) و بیان گالکتین-۳، ۳/۸۶ برابر کاهش ($P = 0/00$) یافت.

نتیجه‌گیری: احتمالاً تمرین هوازی با کاهش بیان گالکتین-۳ و تمرین تناوبی خیلی شدید با کاهش بیان گالکتین-۱ و گالکتین-۳ بر پیشگیری از پیشرفت بیماری سرطان پستان، موثر است.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، تمرین هوازی، تمرین تناوبی خیلی شدید، گالکتین-۱، گالکتین-۳.

تاریخ ارسال: ۱۴۰۲/۰۵/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۵

* نویسنده مسئول:

nuri_r7@ut.ac.ir

مقدمه

در سال ۲۰۲۰، ۲/۳ میلیون مورد ابتلای جدید به سرطان پستان (۱۱/۷ درصد از کل انواع سرطان‌ها)، گزارش شد و بدین ترتیب سرطان پستان، شایع‌ترین نوع سرطان و اصلی‌ترین عامل مرگ ناشی از سرطان در زنان جهان شناخته شد. در این سال، در ایران نیز اصلی‌ترین عامل مرگ ناشی از سرطان در زنان، سرطان پستان و در مردان سرطان معده بوده است (۱).

سرطان پستان زمانی آغاز می‌شود که رشد سلول‌های پستان به دلیل جهش در DNA یا RNA، از کنترل خارج شود (۲). رشد و گسترش تومورها به رشد مداوم عروق خونی جدید از مویرگ‌های قبلی بستگی دارد. در نتیجه، نئوواسکولاریزاسیون^۱ تومور یا آنژیوژنز^۲ تومور یکی از مشخصه‌های سرطان و هدف جذابی برای درمان سرطان در نظر گرفته می‌شود. تکثیر تومور با تغییر تعادل عوامل کنترل کننده آنژیوژنز، رگ‌زایی را افزایش می‌دهد تا ازین راه، خون موردنیاز برای تأمین مواد مغذی و اکسیژن جهت رشد تومور فراهم شود. بدون این فرآیند تومور نمی‌تواند فراتر از چند میلی‌متر رشد کند. سلول‌های توموری که در مجاورت استرس سوخت و سازی و هیپوکسی هستند، باعث افزایش بیان و آزاد شدن عوامل رشد تحریک‌کننده عروق می‌شوند. پیوند این عوامل رشدی به گیرنده‌های آن‌ها در سطح سلول‌های اندوتلیال^۳ (EC)، به فعال شدن EC و مسیرهای آنژیوژنزی منجر می‌شود. به عبارتی دیگر، برای شروع رشد عروق خونی، EC باید فعال شود. فعال سازی EC، باعث ایجاد مسیرهای پیام‌رسانی کاملاً تنظیم شده فعالیت‌های سلولی از جمله تخریب ماتریکس خارج سلولی، جوانه زدن سلول، تکثیر، مهاجرت و تشکیل عروق جدید می‌شود. پس از تشکیل عروق جدید، فرآیند آنژیوژنز با تشکیل ماتریکس خارج سلولی جدید، جذب پری سیت‌ها برای تثبیت عروق و بازگشت به فنوتیپ EC پایدار، به پایان می‌رسد (۳).

به تازگی، آشکار شده است گالکتین‌ها^۴ به فعال شدن سلول‌های اندوتلیالی و سایر مراحل مسیرهای آنژیوژنزی کمک می‌کنند. به همین دلیل در دهه اخیر گالکتین‌ها به عنوان مولکول‌های هدف درمان سرطان‌ها مورد توجه قرار گرفته اند (۴). گالکتین‌ها جزئی از لکتین‌های حیوانی با وزن مولکولی کم و غیر وابسته به کلسیم هستند که به پروتئین β گالاکتوزاید پیوند می‌خورند. تاکنون ۱۵ عضو خانواده گالکتین‌ها شناسایی شده‌اند که در بین آن‌ها، ۱۱ گالکتین در سلول‌های پستانداران بیان می‌شوند. گالکتین-۱ (GAL-1) و گالکتین-۳ (GAL-3) نقش گسترده‌ای در روند سرطان‌ها دارند (۵). نشان داده شده است گالکتین‌ها، فعال شدن مسیرهای آنژیوژنزی را هم به صورت خارج سلولی و هم داخل سلولی تسهیل می‌کنند (۳). در سطح سلول، گالکتین‌ها مسیرهای آنژیوژنزی را با تقویت گیرنده‌های آنژیوژنزی، فعال و تسهیل می‌کنند (۶). پژوهشی نشان داده است GAL-1 گیرنده^۵ VEGFR2 را حتی در غیاب لیگاند تحریک می‌کند (۷) و مشخص شده است GAL-1، به خودی خود به عنوان یک عامل رشد پیش آنژیوژنزی عمل می‌کند (۸). همچنین، گالکتین‌ها در داخل سلول نیز در تعامل مستقیم پروتئین-پروتئین با پروتئین‌های Ras برای تسهیل مسیرهای آنژیوژنزی پائین دستی، مشارکت دارند. برای مثال، GAL-1، پیام رسانی را از راه فعل و انفعالات با H-Ras افزایش می‌دهد در حالی که GAL-3 پیام رسانی را به پایین دست از راه K-Ras هدایت می‌کند (۹). فعال شدن EC توسط عوامل رشد به افزایش تکثیر سلولی منجر می‌شود. با القا یا حفظ این فعال‌سازی، گالکتین‌ها مستقیم به تکثیر EC کمک می‌کنند. به عبارتی، معلوم شده است GAL-1 به تنهایی می‌تواند تکثیر EC را القا کند (۱۰). همچنین، نشان داده شده است GAL-3 باعث رشد EC می‌شود (۶). EC پس از فعال و تکثیر شدن، به سمت محرک‌های آنژیوژنزی مهاجرت می‌کند. نشان داده شده است گالکتین‌ها در این

4- Galectin

5-Vascular endothelial growth factor receptor

1- neovascularization

2- angiogenesis

3- endothelial cell

پیام‌رسانی گیرنده VEGF، حتی در غیاب VEGF، با درمان آنژیواستاتیک هدف‌دار VEGF مقابله کند. مهار این سازوکار با آنتی‌بادی‌های ضد GAL-1، به بازسازی عروقی و مهار رشد تومور منجر می‌شود. همه این یافته‌ها نشان می‌دهد GAL-1 و GAL-3 در القا و حفظ رگزایی تومور در طول رشد تومور نقش دارد و هدف قرار دادن GAL-1 و GAL-3 می‌تواند یک فرصت درمانی فراهم کند (۱۲). علاوه بر اهمیت گالکتین‌ها در تمامی مراحل آنژیوژنز تومور، گالکتین‌ها به ویژه GAL-1 و GAL-3، در حفظ تکثیر سلول‌های تومور، فرار از سرکوب‌کننده‌های رشد، مقاومت در برابر مرگ سلولی، محافظت سلول تومور در هنگام همانندسازی، القا متاستاز، افزایش توانایی سوخت و ساز و فراهم شدن انرژی موردنیاز سلول تومور، بی‌ثباتی ژنومی و جهش‌ها، القا التهاب و کمک به فرار سلول‌های تومور از پاسخ‌های ایمنی، مشارکت دارد (۴).

با وجود اهمیت بسیار زیاد GAL-1 و GAL-3 در تمامی مراحل گسترش تومورها، تاکنون پژوهشی مبتنی بر بررسی تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر این عوامل در بافت تومور به انجام نرسیده است. لذا هدف این پژوهش مقایسه تأثیر ۶ هفته تمرین هوازی و تمرین تناوبی شدید بر بیان GAL-1 و GAL-3 در بافت تومور موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان است.

مواد و روش‌ها

آزمودنی‌های گروه‌های گوناگون این پژوهش را موش‌های ماده balb c تشکیل می‌دهند که در محیطی کنترل شده تحت تأثیر متغیرهای مستقل (تمرین هوازی ۶ هفته‌ای، تمرین تناوبی خیلی شدید ۶ هفته‌ای) قرار می‌گیرند، لذا نوع پژوهش توسعه‌ای و روش آن تجربی است و به روش آزمایشگاهی انجام می‌شود. همه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی به شماره IR.SSRC.REC.1401.103، رعایت شده است. پس از هماهنگی‌های اولیه، ۲۴ سر موش ماده balb c با سن ۵-۶ هفته‌ای و میانگین وزن ۲۰ گرم، از

فعل و انفعالات نقش دارند و در نتیجه مهاجرت EC را تعدیل می‌کنند. برای مثال، معلوم شده است GAL-1 برون‌زا، می‌تواند مهاجرت EC را تقویت کند در حالی که مهار کردن GAL-1 ظرفیت مهاجرت را کاهش می‌دهد. همچنین، نشان داده شده است GAL-1، چسبندگی EC به اجزای ماتریکس مانند لامینین و فیبرونکتین را تعدیل می‌کند. GAL-3 نیز با مهاجرت EC ارتباط دارد. از بین رفتن بیان درون‌زا GAL-3 فعالیت مهاجرتی EC را کاهش می‌دهد. در واقع، GAL-3، جذب‌کننده شیمیایی برون‌زایی است که باعث مهاجرت می‌شود. به نظر می‌رسد فعالیت GAL-3 در اصل شامل تحریک مسیرهای مهاجرت از راه فعال کردن اینتگرین آلفا ۳ و اینتگرین بتا ۳، تحریک فعالیت کیناز وابسته به اینتگرین، یا حفظ پیام‌رسانی گیرنده VEGF است. همچنین، معلوم شده است در مرحله بعدی آنژیوژنز، یعنی تشکیل لومن رگ جدید و جوانه زدن، EC به GAL-1 نیاز دارد (۳). افزایش تشکیل لومن عروق در حضور GAL-3 هم مشاهده شده است (۶). در پژوهشی، کاهش بیان GAL-3 درون‌زا، منجر به کاهش ظرفیت تشکیل لومن عروقی و مانع از جوانه زدن عروق شده است. GAL-1 و GAL-3 هر دو باعث تقویت پیام‌رسانی VEGF می‌شوند (۳، ۶). در نتیجه، گالکتین‌ها به خصوص GAL-1 و GAL-3، در مراحل گوناگون مسیرهای آنژیوژنزی نقش دارند (۳) و به آنژیوژنز تومور در داخل بدن کمک می‌کنند. در پژوهشی، پژوهشگران نشان داده‌اند هدف قرار دادن GAL-3 با پکتین اصلاح شده مرکبات، باعث کاهش رشد تومور و متاستاز سلول‌های سرطان سینه و روده بزرگ می‌شود. در موش‌های تحت درمان، تعداد رگ‌های خونی در تومورهای پستان در مقایسه با موش‌های درمان‌نشده تقریباً ۳۰ درصد کاهش داشته است (۱۱). در پژوهش دیگری معلوم شده است رشد تومور در موش‌های فاقد GAL-1، به دلیل اختلال در آنژیوژنز مختل می‌شود. آزمایش‌های بعدی نشان می‌دهد این تأثیر مهاری مستقل از نوع تومور است. به تازگی، مشخص شده است GAL-1 در تومور، می‌تواند با تسهیل

مرکز انستیتو پاستور تهیه و پس از انتقال به محیط آزمایشگاه مورد تزریق سلول‌های سرطانی قرار گرفتند، آنگاه به حیوان خانه منتقل شدند و به‌طور تصادفی به ۳ گروه هشت‌تایی تومور (T) (ایجاد تومور سرطان پستان)، گروه تومور+ تمرین هوازی (T+AE) (ایجاد تومور سرطان پستان و انجام تمرین هوازی) و گروه تومور+ تمرین تناوبی خیلی شدید (T+HIIT) (ایجاد تومور سرطان پستان و انجام تمرین تناوبی خیلی شدید) تقسیم شدند. پس از انتقال موش‌ها به حیوان خانه، به مدت یک هفته به منظور ریکاوری و آشنایی با محیط جدید، در گروه‌های ۴ سر موش در محیطی استاندارد (دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته) و در قفسه‌های پلکسی گلاس با درب توری و ابعاد ۲۵×۲۷×۴۳ سانتی‌متر نگهداری شدند. در دوره پژوهش، حیوانات آزمایشگاهی به‌صورت آزاد از غذای ساخت شرکت به پرور به صورت پلت، تغذیه کردند. ضمناً آب مورد نیاز موش‌ها نیز آزادانه و به‌وسیله بطری‌های ویژه در دسترس قرارداشت. سلول‌های سرطانی آدنوکارسینومای گیرنده استروژن مثبت (ER+) MC4L2 در پهلوی راست موش‌ها و به روش زیر جلدی تزریق شد. پروتکل فعالیت ورزشی ۷ روز پس از تزریق سلول‌های سرطانی آغاز شد.

کشت سلول و نحوه ایجاد تومور

در این مطالعه، تومور با تزریق یک میلیون سلول آدنوکارسینومای گیرنده استروژن مثبت (ER+) MC4L2 به صورت زیر جلدی در موش‌ها ایجاد شد. سلول‌های MC4L2(ER+)، در فلاسک‌های T75 حاوی محیط کشت DMEM/F-12، FBS ۱۰ درصد و پنی‌سیلین ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر، استراپتومایسین ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، کشت شد و پس از تکثیر، مایع رویی از سطح فلاسک، خارج شده و سلول‌ها با PBS شستشو داده شدند. سپس باید با آنزیم تریپسین ۲۵ درصد، سلول‌ها از کف فلاسک جدا و پس از خنثی سازی آنزیم با محیط کشتی

که شامل ۱۰ درصد FBS بود، کلیه محتویات فلاسک به لوله فالکون ریخته شد و به مدت ۳ تا ۵ دقیقه، در دور ۱۲۰۰ سانتریفیوژ شد، سپس مایع رویی برداشته شده و پلاک سلولی در داخل یک سی سی محیط کشت حاوی ۱۰ درصد FBS حل شد. سلول‌ها با استفاده از لام نئوبار و لامل و یک سی سی رنگ تریپان بلو زیر میکروسکوپ شمارش شدند (تریپان بلو وارد سلول‌های مرده می‌شود و سلول‌های مرده به رنگ آبی و سلول‌های زنده به صورت شفاف دیده می‌شوند). لام ۹ مربع بزرگ دارد. جهت شمارش سلول‌های زنده، سلول‌های زنده در ۴ مربع گوشه و یک مربع وسط را شمرده و با تقسیم تعداد سلول‌های زنده شمارش شده در این ۵ مربع به عدد ۵، می‌توان میانگین تعداد سلول زنده در هر مربع را بدست آورد. سپس یک میلیون سلول در یک سی سی محیط کشت حاوی ۱۰ درصد FBS، به روش زیر جلدی و متمرکز، در پهلوی راست هر موش تزریق شد. قبل از تزریق سلول‌های سرطانی، جهت بی‌هوش کردن موش‌ها، ترکیب زایلوزین و کتامین (دز کتامین ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن+ دز زایلوزین به مقدار ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت زیر جلدی تزریق شد (۱۳).

پروتکل تمرین هوازی

موش‌ها به منظور سازگار شدن با نوار گردان در هفته اول پس از تزریق سلول‌های سرطانی، ۳ روز در هفته، ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ تا ۱۵ متر/دقیقه بر روی نوارگردان دویدند. سپس تمرین هوازی به صورت فزاینده، به مدت ۶ هفته/ ۵ روز در هفته اجرا شد. موش‌ها در هفته اول با سرعت ۶ تا ۱۴ متر/دقیقه به مدت ۳۳-۴۵ دقیقه، هفته دوم با سرعت ۸ تا ۱۶ متر/دقیقه به مدت ۴۸ تا ۶۰ دقیقه و در هفته سوم تا هفته ششم با سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر/دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه (اجرای پروتکل تمرین در نیم ساعت ابتدایی با سرعت متوسط ۱۴ متر در دقیقه و در نیم ساعت پایانی پروتکل تمرینی با سرعت متوسط ۱۸ متر در دقیقه است) بر روی نوارگردان دویدند (۱۴).

پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید

موش‌های این گروه، در هفته اول، به منظور سازگار شدن با تمرین بر روی نوار گردان، ۳ روز در هفته، به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰-۱۵ متر/دقیقه بر روی نوارگردان دویدند. سپس به منظور دستیابی به حداکثر سرعت اجرای تمرین ورزشی، آزمون ظرفیت ورزشی انجام شد. در این آزمون، موش‌ها با سرعت ۸ متر در دقیقه بر روی نوارگردان شروع به دویدن کردند و هر ۲ دقیقه سرعت نوارگردان، ۱ متر در دقیقه تا زمان وقوع خستگی افزایش یافت. در سرعتی که موش‌ها به جای دویدن بر روی نوارگردان، با وجود شوک الکتریکی، در قسمت انتهایی نوارگردان بیش از ۱۰ ثانیه باقی بمانند، به عنوان خستگی تعریف می‌شود. زمان و سرعت، در حالت خستگی، ثبت شد. تمرین تناوبی خیلی شدید، ۶ هفته، ۳ روز در هفته و هر جلسه ۱ ساعت به صورت دویدن بر روی نوارگردان اجرا شد. جلسه تمرین، با ۲ دقیقه دویدن در حداکثر سرعت به دست آمده در آزمون تعیین ظرفیت ورزشی، شروع شد و بعد از هر مرحله ۲ دقیقه ای دویدن، مرحله ۲ دقیقه‌ای استراحت اجرا شد. در هفته اول، موش‌ها ۲ دقیقه با حداکثر سرعت دویدند و بعد از ۲ دقیقه استراحت، ۶۰ دقیقه در سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در تناوب‌های ۲ دقیقه تمرین و ۲ دقیقه استراحت، بر روی نوارگردان دویدند. سرعت اجرای تمرین، ۱ متر در دقیقه هر هفته افزایش یافت (۱۵).

تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی

هر ۳ گروه پژوهش، در شرایط پایه، پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین ورزشی) در شرایط یکسان، با تزریق کتامین و زایلوزین بی هوش شدند و بافت تومور موش‌ها برداشته شد. تومور به قطعات کوچکتر تقسیم شد و در میکرو تیوب‌های ۰/۵ میلی‌لیتری قرار داده، بلافاصله در نیتروژن مایع فریز و سپس در دمای ۷۰- نگهداری شد. در آزمایشگاه دانشکده پیراپزشکی دانشگاه تهران، بافت تومور، با دستگاه هموژنایزر، هموژن شد. مایع رویی لوله هموژن، به منظور استخراج RNA به میکرو تیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری جدید منتقل شد. مراحل استخراج RNA، با توجه به پروتکل ترایزول ساخت شرکت لایف تکنولوژی کشور آمریکا، انجام و برای رونویسی RNA به cDNA، طبق دستور العمل کیت سنتز cDNA، Regent RT PrimerScript شرکت تاکارا کشور ژاپن، میزان بیان GAL-1 و GAL-3 سنجیده شد. تمامی مراحل Real time-PCR بر اساس دستورالعمل مستر میکس سایبر گرین (SYBR-Green) شرکت تاکارا کشور ژاپن، انجام شد (تعداد تکرار هر تست ۳ بار بوده است). از ژن اکتین بتا ACT- β به عنوان ژن کنترل استفاده شد. پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: توالی پرایمرهای ژن‌ها

نام ژن	آغازگر جلویی	آغازگر برگشتی	دمای اتصال در واکنش	طول قطعه
Gal-1	CGCCAGCAACCTGAATC	GTCCCATCTTCCTTGGTGTTA	57	141
Gal-3	GCTACTGGCCCCCTTTGGT	CCAGGCAAGGGCATATCGTA	58	124
ACT- β	CTGTCTGAGTCGCGTCCAC	TCATCCATGGCGAACTGGTG	58	87

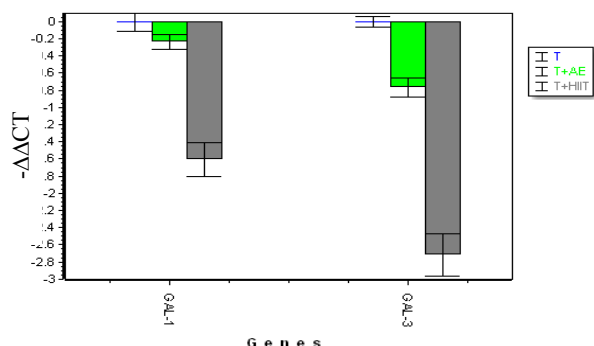
تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژن، با تفریق CT ژن مربوطه و رفرنس (ACT-b)، ΔCt ژن مورد نظر در هر نمونه

محاسبه شد و با تفریق ΔCt های به دست آمده و ΔCt گروه تومور، $\Delta\Delta Ct$ محاسبه شد. (نکته: $\Delta\Delta Ct$ گروه تومور که گروه کنترل است، صفر می‌شود (با تفریق ΔCt گروه

جدول ۲: مقادیر میانگین و انحراف استاندارد ($-\Delta\Delta CT$)

متغیرهای پژوهش		
Gal-1	Gal-3	
$0/11 \pm 0/00$	$0/05 \pm 0/00$	تومور (T)
$0/09 \pm 0/23$	$0/10 \pm 0/76$	تومور+هوازی (T+AE)
$0/19 \pm 1/60$	$0/25 \pm 2/71$	تومور+تناوبی خیلی شدید (T+HIIT)

نمودار ۱: مقادیر میانگین و انحراف استاندارد ($-\Delta\Delta CT$)

متغیرهای پژوهش

جدول ۳: نسبت بیان متغیرها (Fold Change) در گروه تومور+هوازی (T+AE) و گروه تومور+تناوبی خیلی شدید (T+HIIT) در مقایسه با گروه تومور (T)، نسبت بیان متغیرها (Fold Change) در گروه تومور+تناوبی خیلی شدید (T+HIIT) در مقایسه با گروه تومور+هوازی (T+AE)، مقدار p آنالیز واریانس یک طرفه و نتیجه تغییرات متغیرهای پژوهش.

Gal-1	Gal-3	نام ژن‌ها
-1/17	-1/70	گروه تومور+هوازی Fold Change نسبت به گروه تومور
-3/04	-6/57	گروه تومور+تناوبی خیلی شدید نسبت به گروه تومور Fold Change
-2/58	-3/86	گروه تومور+تناوبی خیلی شدید نسبت به گروه تومور+هوازی Fold Change
*0/00	*0/00	P
اختلاف	اختلاف	نتیجه
معنادار	معنادار	

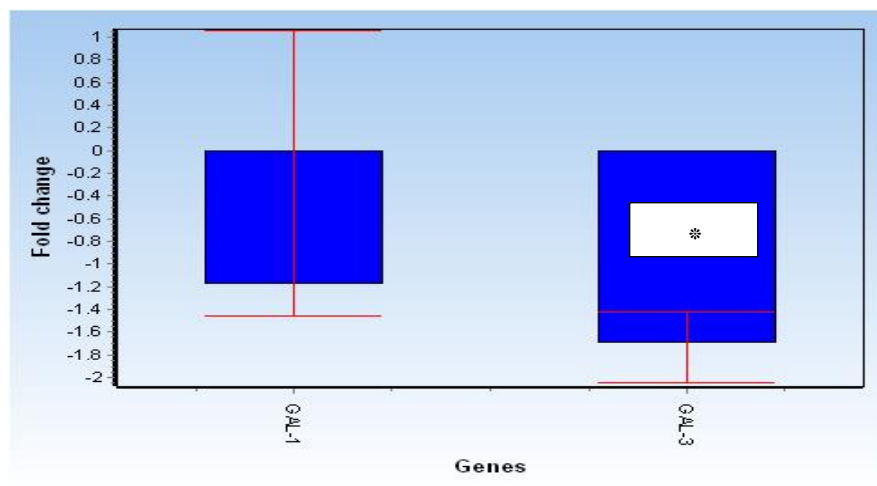
اعداد منفی Fold Change نشان دهنده کاهش بیان ژن و اعداد مثبت Fold Change نشان دهنده افزایش بیان ژن نسبت به گروه مورد مقایسه می‌باشد. * نشانگر معنادار بودن اختلاف است. ($P > 0/05$)

تومور از خودش که گروه کنترل است، صفر حاصل می‌شود (نمودار ۱) و (جدول ۲). سپس با فرمول ۲ به توان $-\Delta\Delta Ct$ ، مقدار Fold Change (Fold Change) به مفهوم چند برابر بیان شدن ژن گروه تجربی نسبت به گروه کنترل است و طبق فرمول Fold Change گروه تومور به عنوان گروه کنترل یک می‌شود و Fold Change گروه‌های دیگر نسبت به آن مقایسه می‌شوند) محاسبه شد. اعداد منفی Fold Change نشان دهنده کاهش بیان ژن و اعداد مثبت Fold Change نشان دهنده افزایش بیان ژن نسبت به گروه مورد مقایسه می‌باشد (نمودار ۲، ۳، ۴) و (جدول ۳). با توجه به این که براساس آزمون کولموگروف-اسمیرنوف توزیع داده‌ها طبیعی بود، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد (مقدار P آنالیز واریانس یک طرفه در جدول ۳ گزارش شد، نتایج آزمون توکی در جدول ۴ گزارش شد). سطح معناداری P، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. مراحل تجزیه و تحلیل با نرم‌افزار جنکس^۱ نسخه ۶/۱ (نرم‌افزار اختصاصی تجزیه و تحلیل داده‌های Real time-PCR) انجام شد.

یافته‌ها

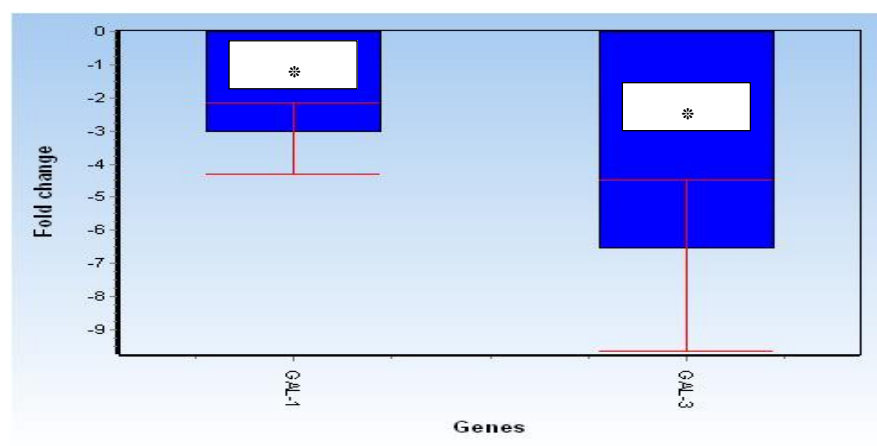
یافته‌های پژوهش نشان می‌دهد:

در گروه T+AE در مقایسه با گروه T، بیان GAL-1، تفاوت معناداری نداشت اما بیان GAL-3 ۱/۷۰ برابر کاهش معنادار داشت (جدول ۲ و ۳ و ۴، نمودار ۱ و ۲). در گروه T+HIIT در مقایسه با گروه T، بیان GAL-1، ۳/۰۴ برابر کاهش (معنادار) و بیان GAL-3، ۶/۵۷ برابر کاهش (معنادار) داشت (جدول ۲ و ۳ و ۴، نمودار ۱ و ۳). در گروه T+HIIT در مقایسه با گروه T+AE، بیان GAL-1، ۲/۵۸ برابر کاهش (معنادار) و بیان GAL-3، ۳/۸۶ برابر کاهش (معنادار) یافت (جدول ۲ و ۳ و ۴، نمودار ۱ و ۴).



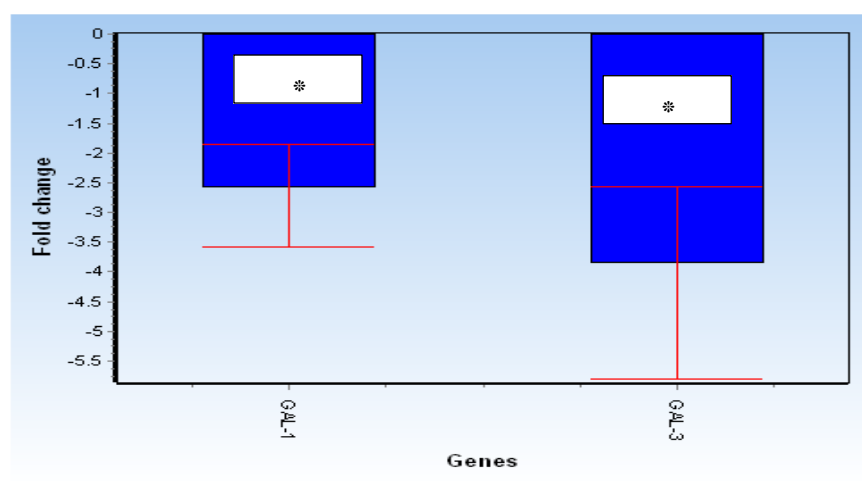
* نشانگر معنادار بودن اختلاف است. ($P < 0.05$)

نمودار ۲: نسبت بیان متغیرها در گروه تومور+هوازی (T+AE) در مقایسه با گروه تومور (T) (Fold Change)



* نشانگر معنادار بودن اختلاف است. ($P < 0.05$)

نمودار ۳: نسبت بیان متغیرها در گروه تومور+تناوبی خیلی شدید (T+HIIT) در مقایسه با گروه تومور (T) (Fold Change)



* نشانگر معنادار بودن اختلاف است. ($P < 0.05$)

نمودار ۴: نسبت بیان متغیرها در گروه تومور+تناوبی خیلی شدید (T+HIIT) در مقایسه با گروه تومور+هوازی (T+AE) (Fold Change)

جدول ۴: آزمون توکی ویژه Gal-1 و Gal-3 در گروه‌های مختلف پژوهش.

گروه‌ها	میانگین اختلاف ($\Delta\Delta CT$)	مقدار P
آزمون توکی ویژه Gal-1 تومور (T) تومور+هوازی (T+AE) تومور+تناوبی خیلی شدید (T+HIIT)	۰/۲۳ ۱/۶۰	۰/۴۷ *۰/۰۰
آزمون توکی ویژه Gal-1 تومور+هوازی (T+AE) تومور+تناوبی خیلی شدید (T+HIIT)	۱/۳۷	*۰/۰۰
آزمون توکی ویژه Gal-3 تومور (T) تومور+هوازی (T+AE) تومور+تناوبی خیلی شدید (T+HIIT)	۰/۷۶ ۲/۷۱	*۰/۰۰ *۰/۰۰
آزمون توکی ویژه Gal-3 تومور+هوازی (T+AE) تومور+تناوبی خیلی شدید (T+HIIT)	۱/۹۴	*۰/۰۰

*نشانه معنادار بودن اختلاف است. ($P < 0.05$)

بحث

این پژوهش با هدف مقایسه تأثیر دو برنامه تمرین ورزشی منتخب بر بیان ژن‌های GAL-1 و GAL-3 در بافت تومور موش‌های ماده balb-c مبتلا به سرطان پستان، انجام شد. نتایج پژوهش نشان داد که تمرین تناوبی خیلی شدید با کاهش بیان GAL-1 و GAL-3 و تمرین هوازی با کاهش بیان GAL-3، می‌توانند روند آنژیوژنز تومور را مختل کرده و احتمالاً مانع رشد و گسترش تومور پستان، شود. پی بردن به نقش چشمگیر آنژیوژنز در رشد و متاستاز سرطان منجر به معطوف شدن پژوهش‌های فراوانی در ارتباط با سازوکارهای تنظیمی و مفاهیم بالینی در مدیریت بیماران سرطانی در چند دهه اخیر شده است. از این رو، استفاده از داروهای ضد آنژیوژنزی و افزایش عوامل ضد آنژیوژنزی با استفاده از روش‌های گوناگون از جمله فعالیت ورزشی بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است (۱۶). مطالعات جدید نشان می‌دهد مهار رشد تومورها از راه کاهش تراکم عروق تومور، با هدف قرار دادن مهمترین عوامل این مسیرها می‌تواند روش ارزشمندی در درمان

باشد. با وجود این، سازوکار مسئول آثار فعالیت ورزشی بر مهار پیشرفت تومور چندان شناخته نشده است. مطالعات بالینی آثار فعالیت ورزشی بر بیماران مبتلا به سرطان پستان، برخی از مسیرهای درگیر را شناسایی کرده‌اند، اما تنوع در مراحل تومور، نوع و شدت تمرین ورزشی و ویژگی‌های بیماران، حاکی از عوامل مداخله‌گری است که شناسایی سازوکارهای بیولوژیکی و مولکولی آثار فعالیت ورزشی بر پیشرفت تومور را پیچیده کرده است.

پژوهش‌های متعددی در جوندگان، به صورت فعالیت‌های ارادی یا فعالیت‌های اجباری به صورت دویدن بر روی نوارگردان و یا شنا، نشان داده‌اند که تمرین‌های ورزشی می‌تواند بروز تومور، رشد تومور و متاستاز را کاهش دهد. برخی شواهد نشان می‌دهد که سرطان‌هایی که دارای زمینه ژنتیکی مختلفی هستند، ممکن است پاسخ‌های متفاوتی به تمرین‌های ورزشی نشان دهند. با این حال، بیشتر پژوهش‌ها پیشنهاد می‌کنند که فعالیت ورزشی منظم، خطر ابتلا به سرطان را کاهش می‌دهد، می‌تواند رشد تومور را کاهش دهد و این اثر به نوع سرطان، ارتباط

همکارانش، در پژوهش دیگری تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) را با تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط بر بیان GAL-3 در زنان یائسه مقایسه کرده‌اند. آزمودنی‌های پژوهش آن‌ها، ۳۰ زن یائسه کم تحرک بودند که تصادفی در سه گروه قرار گرفتند. گروه اول برنامه HIIT را با شدت ۶۰ تا ۹۰ درصد تواتر قلبی ذخیره و گروه دوم برنامه تمرینی هوازی تداومی را با ۵۰ تا ۶۵ درصد تواتر قلبی ذخیره انجام دادند. گروه کنترل میزان فعالیت بدنی منظم روزانه خود را حفظ کردند. بیان ژن GAL-3 در ابتدا و پایان هفته هشتم، سنجیده شده است. HIIT و تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط، بیان ژن GAL-3 را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. این تغییرات در گروه HIIT در حد بارزی بیشتر بود (۱۹). غلامان^۴ و همکارانش، نیز تأثیر تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) و تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) را بر مقادیر GAL-3 زنان دیابتی نوع ۲ بررسی کردند. آزمودنی‌ها، ۳۶ زن مبتلا به دیابت نوع ۲ با میانگین سنی $46/95 \pm 3/49$ سال بودند که تصادفی به سه گروه مساوی کنترل، تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) و تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) تقسیم شده‌اند. هر دو برنامه HIIT و MICT سه جلسه در هفته در یک دوره ۱۲ هفته‌ای انجام شد. شدت تمرین در گروه HIIT و MICT به ترتیب ۹۰ و ۶۰ تا ۷۰ درصد حداکثر تواتر قلبی بوده است. نمونه خون در ابتدا و بعد از مداخله تمرینی ۱۲ هفته‌ای جمع‌آوری و مقادیر متغیرها به روش الیزا سنجیده شد. نتایج نشان داد مقادیر GAL-3 در گروه‌های HIIT و MICT کاهش معناداری داشت (۲۰). زایدی^۵ و همکارانش نیز تأثیر فعالیت ورزشی طولانی‌مدت را بر میزان GAL-3 در بیمارانی (۱۳۷ بیمار با دامنه سنی ۴۱ تا ۸۱ سال که ۱۷/۲ درصد زن بودند) که هم زمان به دیابت نوع ۲ و بیماری عروق کرونر مبتلا بودند، بررسی کرده‌اند. نوع تمرین، ترکیبی از تمرین‌های هوازی و قدرتی

چندانی ندارد. این اثرات مهار کننده فعالیت ورزشی بر رشد تومور، احتمالاً از چندین سازوکار مختلف متاثر می‌شود و سهم مهار کنندگی هر سازوکار در اثر تمرین ورزشی، ممکن است در بین انواع سرطان‌ها متفاوت باشد (۱۷). با توجه به خلا پژوهشی در بررسی تأثیر تمرینات ورزشی بر بیان GAL-1 و GAL-3 در بافت تومور، نزدیکترین پژوهش‌های مرتبط با اثر تمرینات ورزشی بر بیان فاکتورها در افراد سالم و بیمار، آورده می‌شود. خاجیان^۱ و همکارانش، تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی منظم بر تغییرات GAL-3 را پس از یک تمرین هوازی شدید در مردان جوان سالم، بررسی کرده‌اند. آزمودنی‌ها ۱۱ مرد جوان سالم (سن: $1/8 \pm 20/8$ سال) بودند. همه آزمودنی‌ها به عنوان یک جلسه تمرین هوازی شدید، آزمون استقامتی خیلی شدید تکرار شونده^۲ (RHIET) را انجام دادند. پس از آن، آزمودنی‌ها تمرین‌های استقامتی را ۳ روز در هفته به مدت ۸ هفته با شدتی معادل ۶۰ تا ۷۵ درصد تواتر قلبی ذخیره فردی (HRR)، به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه انجام دادند. پس از ۸ هفته تمرین، مجدداً آزمون RHIET گرفته شد. نمونه خون در ابتدا (گام اول)، بلافاصله بعد از آزمون RHIET (مرحله دوم)، ۴۸ ساعت پس از برنامه تمرین ۸ هفته‌ای (مرحله سوم) و بلافاصله پس از آزمون RHIET دوم (گام چهارم) گرفته شد. نتایج نشان می‌دهد میزان GAL-3 بعد از اولین تمرین هوازی شدید افزایش داشته، پس از ۸ هفته تمرین ورزشی، GAL-3 نسبت به مرحله دوم خون‌گیری کاهش داشته، اما تغییر معنا داری در میزان GAL-3 در این مرحله نسبت به مرحله پایه مشاهده نشده است. میزان GAL-3، بعد از دومین آزمون RHIET در مقایسه با بعد از آزمون RHIET اول کمتر بوده است. آن‌ها نتیجه گرفتند تمرین‌های استقامتی منظم با شدت و مدت زمان مشخص در پژوهش آن‌ها، میزان GAL-3 را پس از یک جلسه تمرین هوازی شدید کاهش داده است (۱۸). کیهانی^۳ و

4 - Gholaman
5- zaidi

1 - Khajeian
2 - Repeated High-Intensity Endurance Test
3 - Keyhani

به مدت دست کم ۱۵۰ دقیقه در هفته به مدت ۱۲ ماه بوده است. میزان پروتئین در گردش خون با روش الایزا سنجیده شده است. بررسی نتایج نشان می‌دهد احتمالاً ۱۲ ماه تمرین ورزشی، تأثیر معناداری بر مقادیر GAL-3 ندارد (۲۱). در این میان پژوهشی که تأثیر فعالیت ورزشی را بر بیان GAL-1 بر آزمودنی‌های سالم و یا بیمار، بررسی کرده باشد، یافت نشد. همچنین پژوهشی که تأثیر فعالیت ورزشی را بر بیان GAL-3 در بیماران سرطانی، بررسی کرده باشد یافت نشد در نتیجه از آنجائی که پژوهش حاضر احتمالاً اولین پژوهشی است که تأثیر فعالیت ورزشی بر بیان GAL-1 و GAL-3 در بافت تومور را بررسی کرده است و با توجه به اینکه محیط تومور از نظر میزان هیپوکسی، جریان خون و فشار برشی، بسیار متفاوت با محیط بافت سالم در آزمودنی‌های سالم یا سایر بیماری‌هاست، نتایج پژوهش حاضر را نمی‌توان با پژوهش‌های قبلی مقایسه کرد. اگرچه سازوکار تأثیر فعالیت ورزشی بر آنژیوژنز تومور و بافت تومور به طور کامل شناخته نشده است، اما مشخص شده است که تومور دارای محیطی ناهمگن با جریان خون و فشار برشی متغیر است (اندوتلیوم عروق تومور به دلیل تکثیر سریع سلول‌های تومور، در معرض شرایط اسیدی و هیپوکسی است که این عوامل منجر به افزایش تولید عوامل پروآنژیوژن می‌شود) و فعالیت ورزشی، ممکن است تأثیر مستقیمی از راه توزیع مجدد برون ده قلبی، بر فیزیولوژی تومور داشته باشد. هنگام فعالیت ورزشی، جریان خون در پاسخ به پیام‌های موضعی عروق و جهت رفع نیازهای سوخت و سازی، به عضلات اسکلتی فعال به میزان بارزی افزایش می‌یابد و جریان خون اندام‌های احشایی و عضلات غیرفعال با فرآیند انقباض عروقی، کاهش می‌یابد. پژوهشی بر موش‌های مبتلا به سرطان پروستات، نشان داده است جریان خون تومور در هنگام تمرین ورزشی، تقریباً ۲۰۰ درصد در مقایسه با گروه غیرفعال افزایش می‌یابد و به کاهش ۵۰ درصدی هیپوکسی در عروق تومور منجر می‌شود که ممکن است این رخداد، پیامد کاهش همزمان

گیرنده‌های مربوط به انقباض عروق (مخصوصاً کاهش گیرنده آلفا آدرنژیک) و کاهش تون میوژنیک (تون حاصل از فشار شدید داخل رگ) باشد (۲۲). تمرین هوازی و تمرین تناوبی خیلی شدید، تأثیر متفاوتی بر جریان خون تومور و شرایط هیپوکسی تومور خواهند داشت، بنابراین، مقایسه تأثیر این دو نوع تمرین بر بیان GAL-1 و GAL-3 در بافت تومور، اطلاعات ارزشمندی در جهت شناسایی بهترین نوع تمرین ورزشی برای بیماران مبتلا به سرطان پستان، خواهد داد. معلوم شده است بیان گالکتین، در شرایط هیپوکسی القا می‌شود. علاوه بر این، اجزای ماتریکس خارج سلولی و عوامل ترشح شده توسط سلول‌های تومور یا سلول‌های التهابی می‌توانند بر بیان گالکتین اندوتلیال تأثیر گذارند. برای مثال، اینترفرون گاما می‌تواند بیان GAL-1 را القا کند، در حالی که اینترفرون گاما-۱ بتا بیان GAL-1 و GAL-3 اندوتلیال را القا می‌کند (۲۳). در نتیجه اگر نوع و شدت تمرین به گونه‌ای باشد که منجر به افزایش جریان خون تومور و در نتیجه کاهش هیپوکسی و اسیدوز در عروق تومور شود، ممکن است باعث کاهش بیان GAL-1 و GAL-3 و سایر عوامل پروآنژیوژن می‌شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید باعث کاهش بیان چند برابری GAL-1 و GAL-3 (بیان GAL-1، ۲/۵۸، برابر کاهش و بیان GAL-3، ۳/۸۶، برابر کاهش) نسبت به گروه پروتکل تمرین هوازی شد و می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً تمرین تناوبی خیلی شدید نسبت به تمرین هوازی باعث افزایش بیشتر جریان خون عروق تومور شده و با کاهش هیپوکسی، در کاهش بیان GAL-1 و GAL-3، اثرگذارتر بوده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش، تمرین هوازی منجر به کاهش بیان GAL-3 و تمرین تناوبی خیلی شدید، منجر به کاهش بیان فاکتورهای آنژیوژن GAL-1 و GAL-3 شد. از این رو می‌توان تمرین ورزشی هوازی و تناوبی خیلی

- VEGFR1 and VEGFR2 involvement in extracellular galectin-1- and galectin-3-induced angiogenesis. *PloS one*. 2013;8(6):e67029.
7. Croci DO, Cerliani JP, Dalotto-Moreno T, Mendez-Huergo SP, Mascanfroni ID, Dergan-Dylon S, et al. Glycosylation-dependent lectin-receptor interactions preserve angiogenesis in anti-VEGF refractory tumors. *Cell*. 2014;156(4):744-58.
 8. Thijssen VL, Barkan B, Shoji H, Aries IM, Mathieu V, Deltour L, et al. Tumor cells secrete galectin-1 to enhance endothelial cell activity. *Cancer research*. 2010;70(15):6216-24.
 9. Belanis L, Plowman SJ, Rotblat B, Hancock JF, Kloog Y. Galectin-1 is a novel structural component and a major regulator of h-ras nanoclusters. *Molecular biology of the cell*. 2008;19(4):1404-14.
 10. Elad-Sfadia G, Haklai R, Ballan E, Gabius HJ, Kloog Y. Galectin-1 augments Ras activation and diverts Ras signals to Raf-1 at the expense of phosphoinositide 3-kinase. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(40):37169-75.
 11. Nangia-Makker P, Hogan V, Honjo Y, Baccarini S, Tait L, Bresalier R, et al. Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin. *Journal of the National Cancer Institute*. 2002;94(24):1854-62.
 12. Thijssen VL, Rabinovich GA, Griffioen AW. Vascular galectins: regulators of tumor progression and targets for cancer therapy. *Cytokine & growth factor reviews*. 2013;24(6):547-58.
 13. 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. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2014;17(4):231.
 14. Schebeleski-Soares C, Occhi-Soares RC, Franzoi-de-Moraes SM, et al. Preinfection aerobic treadmill training improves resistance against *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009;34(4):659-665.
 15. Marcinko KA, Sikkema SA, Samaan CO, et al. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity.

شدید را به عنوان راهکاری در کاهش آنژیوژنز تومور و در نتیجه رشد تومور در سرطان پستان پیشنهاد داد. اما چون پژوهشی که تأثیر تمرینات ورزشی بر این فاکتورها در سرطان پستان بررسی کرده باشد، یافت نشد، پیشنهاد می شود در پژوهش های آتی، برای روشن شدن مکانیسم اثر، فاکتورها و دیگر عوامل درگیر در فرآیند آنژیوژنز ارزیابی شوند. از طرفی براساس نتایج پژوهش حاضر، تمرین هوازی با شدت متوسط بر بیان GAL-1 تأثیری نداشت و چون پژوهشی که اثر تمرینات ورزشی را بر بیان GAL-1 بررسی کرده باشد، یافت نشد، لذا پیشنهاد می شود، تأثیر تمرین هوازی با شدت های مختلف بر بیان GAL-1 بررسی شود.

تعارض منافع

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

References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):209-49.
2. American Cancer Society. *Breast Cancer Facts & Figures 2017-2018*. Atlanta: American Cancer Society, Inc. 2017.
3. Griffioen AW, Thijssen VL. Galectins in tumor angiogenesis. *Annals of translational medicine*. 2014;2(9):90.
4. Girotti MR, Salatino M, Dalotto-Moreno T, Rabinovich GA. Sweetening the hallmarks of cancer: Galectins as multifunctional mediators of tumor progression. *The Journal of experimental medicine*. 2020;217(2).
5. Thijssen VL, Hulsmans S, Griffioen AW. The galectin profile of the endothelium: altered expression and localization in activated and tumor endothelial cells. *The American journal of pathology*. 2008;172(2):545-53.
6. D'Haene N, Sauvage S, Maris C, Adanja I, Le Mercier M, Decaestecker C, et al.

- Intensity Aerobic Training Effects on Galectin-3, Pentraxin-3, and Several Inflammatory Mediators Levels in Type 2 Diabetic Women, a Randomized Clinical. *Women. Health. Bull.* 2021;8(4):238-246.
21. Zaidi H, Byrkjeland R, Njerve IU, Akra S, Solheim S, Arnesen H, et al. Effects of exercise training on markers of adipose tissue remodeling in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus: sub study of the randomized controlled EXCADI trial. *Diabetology & metabolic syndrome.* 2019;11:109.
22. Wragg JW, Durant S, McGettrick HM, Sample KM, Egginton S, Bicknell R. Shear stress regulated gene expression and angiogenesis in vascular endothelium. *Microcirculation.* 2014;21(4):290-300.
23. Zhao XY, Chen TT, Xia L, Guo M, Xu Y, Yue F, et al. Hypoxia inducible factor-1 mediates expression of galectin-1: the potential role in migration/invasion of colorectal cancer cells. *Carcinogenesis.* 2010;31(8):1367-75.
- Molecular metabolism. 2015;4(12):903-915.
16. Makrilia N, Lappa T, Xyla V, Nikolaidis I, et al. The role of angiogenesis in solid tumours: an overview. *Eur J Intern Med.* 2009;20(7):663-671.
17. Hojman P, Gehl J, Christensen JF, Pedersen BK. Molecular Mechanisms Linking Exercise to Cancer Prevention and Treatment. *Cell metabolism.* 2018;27(1):10-21.
18. Khajeian N, Moghadasi M. Effect of 8 weeks regular endurance training on galectin-3 changes after a strenuous aerobic exercise. *Journal of Physical Activity and Hormones.* 2017;8(3):029-038.
19. Keyhani D, Tartibian B, Dabiri A, Teixeira AMB. Effect of High-Intensity Interval Training Versus Moderate-Intensity Aerobic Continuous Training on Galectin-3 Gene Expression in Postmenopausal Women: A Randomized Controlled Trial. *Journal of aging and physical activity.* 2020:1-9.
20. Gholaman M, Gholami M, Azarbayjani MA, Abed Natanzi H. High and Moderate