

Effect of 10 Weeks of High-Intensity Interval Training on Protein Levels of NF-kB and Expression of Atrogin-1 and MuRF-1 in Cardiomyocytes of Female Mice with Breast Cancer

Yazdanshenas N¹, Peeri M^{1*}, Delfan M²

¹ Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

Receive: 18/8/2020
Accepted: 30/9/2020

* Corresponding Author:
M.Peeri@iauctb.ac.ir

Ethics Approval:
IR.SSRI.REC.1398.621

Abstract

Introduction: Limiting cancer-induced cardiac atrophy is a highly important for improving the survival rates and quality of life in cancer patients. The purpose of this study was to evaluate the effect of 10 weeks of high-intensity interval training (HIIT) on cardiac muscle weight, NF-kB protein expression, and expression of *Atrogin-1* and *MuRF-1* genes in the heart muscle of breast cancer-bearing female mice.

Methods: In this experimental study, 12 BALB/c mice with induced breast cancer were divided into control and HIIT groups. The HIIT protocol consisted of six intervals of running at 85%-90% $\dot{V}O_2$ peak, interspersed with 90 seconds of active rest, and five minutes of warm-up and cool-down. The left ventricular tissue was extracted 24 h following the last training session. Western blotting was used to measure protein levels of NF-kB, and quantitative real-time polymerase chain reaction was used to measure *Atrogin-1* and *MuRF-1* expression in the heart tissue. Data were analyzed using an independent *t* test at a 0.05 significance level.

Results: The mean cardiac muscle weight in the HIIT group was greater than in the control group ($P < 0.001$). A significant reduction in NF-kB protein levels ($P = 0.004$) and expression of *Atrogin-1* ($P < 0.001$) and *MuRF-1* ($P < 0.001$) were observed in the HIIT group when compared with control group.

Conclusion: Ten weeks of HIIT may inhibit NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 axis, leading to decreased atrophy and increased heart weight in mice with breast cancer.

Keywords: HIIT, Heart, Breast Cancer, NF-kB, Atrogin-1, MuRF-1

تأثیر ۱۰ هفته اجرای تمرین تناوبی شدید بر بیان پروتئینی NF-kB و بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در مایوست‌های عضله قلبی موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان

نعیمه یزدان شناس^۱، مقصود پیری^{۱*}، مریم دلفان^۲

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: محدود کردن آتروفی قلبی ناشی از سرطان جهت بهبود میزان بقا و کیفیت زندگی مبتلایان به سرطان یک مساله پراهمیت به‌شمار می‌رود. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر ده هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر وزن عضله قلبی، بیان پروتئینی NF-kB، بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در عضله قلبی موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان بود.

روش بررسی: پژوهش حاضر از نوع تجربی است. سرطان پستان به ۱۲ سر موش آزمایشگاهی ماده نژاد بلب سی القاء شد، سپس آنها به دو گروه کنترل و HIIT تقسیم شدند. تمرین HIIT شامل شش تناوب دویدن با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO₂peak روی نوارگردان، ۹۰ ثانیه ریکواری فعال بین هر تناوب، ۵ دقیقه گرم کردن و سرد کردن بود. بافت بطن چپ ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین جداسازی شد. از روش وسترن بلات جهت سنجش سطوح پروتئینی NF-kB و qReal time – PCR جهت سنجش بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در بافت قلب استفاده شد. آزمون t مستقل در سطح معناداری $p \leq 0/05$ جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین وزن عضله قلبی در گروه HIIT بیشتر از گروه کنترل بود ($p < 0/001$). کاهش پروتئینی NF-kB ($p = 0/004$)، بیان ژن‌های Atrogin-1 ($p < 0/001$) و MuRF-1 ($p < 0/001$) در بافت قلب گروه تمرین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: احتمالاً ۱۰ هفته تمرین HIIT می‌تواند از طریق مهار محور التهابی NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 احتمالاً باعث کاهش روند آتروفی و افزایش وزن قلب در موش‌های مبتلا به سرطان پستان شود.

واژه‌های کلیدی: HIIT، قلب، سرطان پستان، NF-kB، Atrogin-1، MuRF-1

تاریخ ارسال: ۹۹/۵/۲۸

تاریخ پذیرش: ۹۹/۷/۱۹

* نویسنده مسئول:

M.Peerii@iauctb.ac.ir

مقدمه

از جمله مسائلی که امروزه محققین به دنبال یافتن راه حلی برای مقابله با آن هستند اختلال در ساختار و عملکرد عضله قلبی است که ناشی از سرطان، مشتقات آن و همچنین روش‌های درمانی آن است (۱). این عارضه به عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلاتی که در بیماران مبتلا به سرطان بوجود می‌آید، نه تنها روند درمانی آنها را با مشکل روبرو می‌کند، بلکه حیات آنان را نیز با خطر مواجه می‌کند (۱). از مسایل دیگری که محققین حوزه آنکولوژی امروزه بروی آن تمرکز کرده اند، سرطان پستان است که از شایع‌ترین سرطان‌ها در میان زنان در سراسر دنیا به‌شمار می‌رود و به عنوان اصلی‌ترین عامل در مرگ و میر مبتلایان به این نوع سرطان نیز محسوب می‌گردد (۲). اصولا سرطان و مشتقات آن با برقراری مسیرهای سیگنالینگ با ارگان‌های مختلف بدن (۱)، از جمله قلب (۱) باعث ایجاد تغییرات مکانیسمی در کاردیومیوسیت‌ها شامل افزایش آپوپتوز، کاهش سنتز پروتئین، افزایش اتوفازی و پروتئولیز عضله قلبی از طریق سیستم یوبیکویتین پروتئوزوم نه تنها باعث کاهش توده و وزن این عضو می‌گردد (۴)، بلکه باعث ایجاد تغییرات ساختاری و عملکردی شامل فیروز عضله قلبی، اختلال در ساختار عضلانی مایوکاردیال و تغییر در پروتئین‌های انقباضی عضله قلب از جمله تروپونین I و زنجیره سنگین میوزین می‌شوند (۵). از طرفی، در میان مسیرهای متعدد درگیر در آتروفی قلبی ناشی از سرطان از جمله Akt، mTOR، MAPKA و Smad (۶)، مسیر پیام‌دهی NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مسیرهای پیام‌دهی درگیر در آتروفی قلبی ناشی از سرطان از طریق تاثیر بر سلول‌های عضله قلبی، باعث کاهش و اختلال عملکرد عضله قلبی می‌شود. به نحوی که سرطان با فراتنظیمی‌گیرنده‌های NF-kB باعث راه‌اندازی مسیر Atrogin-1/MuRF-1 و مسیرهای پایین دست آن می‌گردد و متعاقب آن افزایش التهاب در عضله قلبی منجر به کاهش نرخ سنتز پروتئین در عضله قلبی و افزایش آتروفی و از دست رفتن توده و وزن قلب در افراد مبتلا به سرطان می‌گردد. این تغییرات به نوبه خود از مهم‌ترین مسایل و چالش‌های موجود در بخش درمانی و همچنین تحقیقاتی به شمار می‌روند.

علی‌رغم مسایل مذکور و همچنین با وجود اهمیت عملکرد قلبی بیماران سرطانی، مطالعات بروی تاثیر پذیری بسیاری

از این مکانیزم‌ها در سلول‌های عضله قلبی بیماران مبتلا به سرطان پستان از مداخله‌های ورزشی استقامتی و تناوبی شدید بسیار محدود می‌باشد (۷)، به گونه‌ای که تعیین این سازوکارها در عضله قلبی و متعاقبا عملکرد آن تحت تاثیر مداخله‌های ورزشی به عنوان یکی دیگر از مسایل مهم پیش بالینی و حتی بالینی در مطالعات حوزه سرطان و آنکولوژی ورزشی تلقی می‌گردد (۷).

امروزه نشان داده شده است که ورزش و فعالیت بدنی نه تنها باعث بهبود سلامتی گردند و نقش پیش‌گیرنده در بروز بیماری‌ها دارند (۸، ۹)، بلکه به عنوان یک روش مکمل درمانی مختلف می‌توانند مهارکننده رشد توده سرطان و عوارض ناشی از آن از جمله آتروفی قلبی و کاهش اثرات جانبی درمانی آن از جمله شیمی‌درمانی باشد (۱۰-۱۲). با اینکه کاهش در میزان رشد توده سرطان می‌تواند باعث کاهش پیام‌دهی از سوی این عضو به عضله قلب گردد، اما هنوز هم تعیین مسیرهای پیام‌دهی در این رابطه و در عضله قلبی که تحت تاثیر مداخله‌های ورزشی قرار می‌گیرند در هاله‌ای از ابهام قرار دارند (۱۳، ۱۴). بر این اساس، هدف قرار دادن مسیرهای کلیدی درگیر در آتروفی قلبی ناشی از سرطان توسط مداخله‌های ورزشی می‌تواند راه‌گشای مطالعات جدید در حیطه آنکولوژی ورزشی باشد. از این‌رو، با توجه به نقش کلیدی و مهم قلب در بقا بیماران مبتلا به سرطان، بررسی سازوکارها و تعیین نقش آنها تحت تاثیر مداخله‌های ورزشی از جمله HIIT^۱ به عنوان یک مساله اساسی و مهم می‌تواند کلید برخی از این مسایل در مطالعات آنکولوژی ورزشی باشد. اینکه HIIT به‌وسیله کدام مکانیزم و چگونه، پیشرفت آتروفی قلبی در بیماران مبتلا به سرطان پستان را مهار و یا کند می‌کند، هنوز هم بدون جواب باقی مانده است. بر این اساس، در این پژوهش، محققین به‌دنبال یافتن پاسخ به این مساله بودند که آیا انجام ۱۰ هفته تمرین تناوبی شدید دویدن به روی تردمیل بر وزن و آتروفی عضله قلبی با تاثیر بر سازوکار مهم درگیر در التهاب و آتروفی سلول‌های عضله قلبی شامل سطوح پروتئینی NF-kB، بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در عضله قلبی موش‌های ماده نژاد بلب سی مبتلا به سرطان پستان تفاوتی ایجاد خواهد کرد؟ از این رو هدف از مطالعه حاضر مطالعه بر روی محور NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان پستان بود.

^۱ High-intensity interval training

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع آزمایشگاهی و نیمه تجربی بود. بدین منظور ۱۲ سر موش آزمایشگاهی با جنسیت ماده و از نژاد بالبسی با میانگین وزنی ۱۳ تا ۱۵ گرم در دامنه سنی ۴ الی ۵ هفته از انستیتو تحقیقاتی پاستور تهران تهیه گردید. شرایط استاندارد آزمایشگاهی از جمله حفظ دما در محدوده ۲۳-۲۵ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۴۰-۵۰ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ جهت نگهداری موش‌های مذکور در نظر گرفته شد. همه موش‌ها با دسترسی آزادانه به آب و غذای مخصوص به صورت گروه‌های جداگانه در قفس‌های مخصوص جوندگان نگهداری شدند. اصول اخلاقی کار با حیوانات مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران با دریافت کد اخلاق (IR.SSRI.REC.1398.621) از دانشگاه تهران در طول دوره تحقیق توسط محققین رعایت گردید.

القاء سرطان پستان: رده سلولی MC4-L2 به مقدار یک فلاسک T25 از مرکز ذخایر ژنتیک تهیه گردید. سپس سلول‌ها در فلاسک‌های T75 با محیط کشت حاوی DMEM/F-12، پنی‌سیلین ۱۰۰µg/ml، ۱۵ میلی‌مول بافر HEPES استرپتومایسی ۱۰۰µg/ml، FBS ۱۰٪ و گلوتامین کشت داده شد. سپس سوسپانسیون سلولی پس از طی چندین دوره پاساژ سلولی تهیه گردید. پس از طی تمامی مراحل مذکور، به مقدار یک میلیون سلول سوسپانسیون شده در ترکیب با بافر PBS به صورت زیرپوستی و در پهلوی موش‌ها تزریق شد. در اواسط هفته دوم بعد از تزریق سلول‌های سرطانی، توده سرطان پستان در محل تزریق قابل لمس بود.

گروه‌های پژوهش: بعد از از اینکه سرطان به موش‌ها القا گردید، گروه‌بندی آنها به شکل تصادفی در دو گروه کنترل و HIIT انجام گرفت. قبل از شروع پروتکل اصلی تمرین، یک هفته به صورت روزانه ۳ تا ۱۰ دقیقه راه رفتن و دویدن با سرعت ۳ تا ۸ متر بر دقیقه بروی نوارگردان طراحی شده برای جوندگان جهت آشناسازی گروه تمرینی در نظر گرفته شد. موش‌های گروه HIIT در طول پژوهش برنامه ۱۰ هفته‌ای تمرین HIIT را به صورت ۵ روز در هر هفته اجرا کردند. کل تمرین شامل ۳۷/۵ دقیقه دویدن روی نوارگردان بود. این نوع پروتکل تمرینی شامل گرم کردن به مدت پنج دقیقه و با شدت ۳۰-۴۰ درصد

VO₂peak موش‌ها، شش تناوب ۳ دقیقه و ۲۰ ثانیه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO₂peak موش‌ها به عنوان تمرین اصلی، یک دقیقه و ۳۰ ثانیه ریکواری فعال دویدن با شدت ۳۰ تا ۳۵ درصد VO₂peak بین هر تناوب و در انتها ۵ دقیقه دویدن با شدت ۴۰-۵۰ درصد VO₂peak موش‌ها به عنوان مرحله ریکواری یا سرد کردن بود (۱۵). سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی (vVO₂max) یا همان سرعتی است که موش در آن به اوج اکسیژن مصرفی خود می‌رسند توسط آزمون فزاینده هویدال و همکاران جهت تعیین شدت تمرین محاسبه شد (۱۶).

اندازه‌گیری ابعاد سرطان و محاسبه حجم آن: چند روز بعد از قابل لمس بودن توده سرطانی در محل تزریق، درست زمانی که توده سرطانی قابلیت اندازه‌گیری با کولیس دیجتالی را داشت، ابعاد توده سرطان به وسیله کولیس در دو بعد عرض [W] (بعد عرضی با ۹۰ درجه زاویه نسبت به طول) و طول [L] (بزرگ‌ترین بعد تومور) به صورت هفتگی اندازه‌گیری شدند. سپس برای سنجش حجم توده سرطانی از ابعاد اندازه‌گیری شده، فرمول جنسن و همکارانش (۲۰۰۸) $[V=1/2(L^2 \times W)]$ مورد استفاده قرار گرفت (۱۷).

جداسازی بافت قلب: ۲۴ ساعت بعد از اینکه آخرین جلسه تمرینی انجام شد، موش‌ها با تزریق درون صفاقی زایلازین [10 mg/kg] و کتامین [90 mg/kg] بی‌هوش شدند. سپس عضله قلبی بلافاصله از بدن موش‌ها جدا شد و در تانک نیتروژن مایع قرار داده شدند، سپس در دمای ۸۰- جهت تجزیه و تحلیل‌های بعدی آزمایشگاهی نگهداری شدند.

وسترن بلات: برای سنجش میزان پروتئین NF-kB از این روش استفاده گردید. از تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکرل آمید جهت جداسازی مقادیر مساوی از پروتئین استفاده شد. بعد از این مرحله، پروتئین‌های ژل الکتروفورز به کاغذ PVDF منتقل شدند، سپس به همراه همین کاغذ به ۱ ساعت در محلول بلاکینگ قرار گرفتند. بعد از آن کاغذ در آنتی بادی اولیه (Abcam, USA) و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت در محلول بلاکینگ برای قرار داده شدند. سپس در روز دوم بعد از اینکه کاغذ ۳ بار با محلول TBST شستشو داده شد با آنتی‌بادی ثانویه به مدت یک ساعت انکوبه شد. در مرحله بعد بلات‌ها

دمای ذوب (Melting Curve) نیز برای اطمینان از اختصاصی بودن محصول واکنش انجام گرفت. همچنین از ژن خانه داری GAPDH برای کنترل داخلی استفاده گردید. GAPDH مربوط به نمونه جهت کنترل کیفی محصول واکنش بر روی ژل ۲٪ انتقال داده شد و از نظر وجود و یا عدم وجود محصول مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از روش‌های آمار توصیفی به تشریح و توصیف داده‌ها استفاده شد. ابتدا طبیعی بودن داده‌ها توسط آزمون کلموگروف اسمینروف استفاده گردید. انجام گرفت. سپس برای بررسی تغییرات بین گروه تمرین و گروه کنترل از آزمون t مستقل استفاده شد. جهت تعیین رابطه سنجی بین وزن قلب و سطوح پروتئینی NF-kB، MuRF-1 و Atrogin-1 از ضریب همبستگی پیرسون استفاده گردید. از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ در سطح معناداری $p \leq 0.05$ جهت کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری استفاده شد. در نهایت با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 ترسیم نمودارها انجام گرفت.

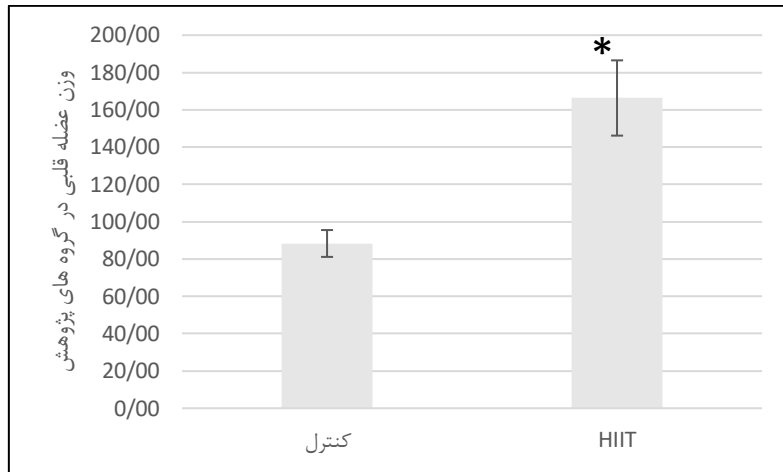
یافته‌ها

نتایج آزمون t مستقل نشان داد که وزن قلب در موش‌های گروه HIIT به صورت معناداری از وزن قلب در موش‌های گروه کنترل بیشتر بود به طوری که این میزان در گروه تمرینی $166/33$ میلی‌گرم و در گروه کنترل $88/33$ میلی‌گرم بود ($p < 0.001$) (نمودار ۱). بررسی تغییرات بیان پروتئینی NF-kB در بافت قلب، کاهش معنادار این پروتئین در گروه تمرین HIIT را نشان داد که در نمودار شماره یک ارایه شده است ($p = 0.004$) (نمودار ۲).

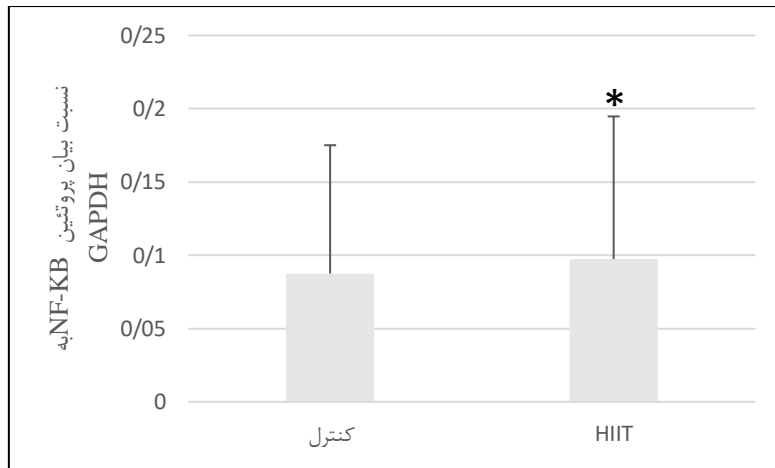
همچنین کاهش معناداری در میزان بیان ژن‌های Atrogin-1 ($p < 0.001$) و MuRF-1 ($p < 0.001$) در بافت عضله قلبی موش‌های گروه تمرین HIIT نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ۳ و ۴). پژوهش حاضر نشان داد ضریب همبستگی منفی معناداری بین وزن توده قلبی با بیان پروتئین NF-kB ($r = -0.566$, $p < 0.001$) و بیان ژن‌های Atrogin-1 ($r = -0.889$, $p < 0.001$) و MuRF-1 ($r = -0.938$, $p < 0.001$) وجود دارد.

توسط بافر استریپینگ شستشو داده شدند. بعد از اینکه آنتی‌بادی NF-kB به روی کاغذ اضافه شد، دوباره کاغذ با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شد. جهت دانسیتومتری باندهای به‌دست آمده از برنامه ImageJ استفاده گردید. همچنین از پروتئین خانه‌داری GAPDH برای کنترل داخلی استفاده شد.

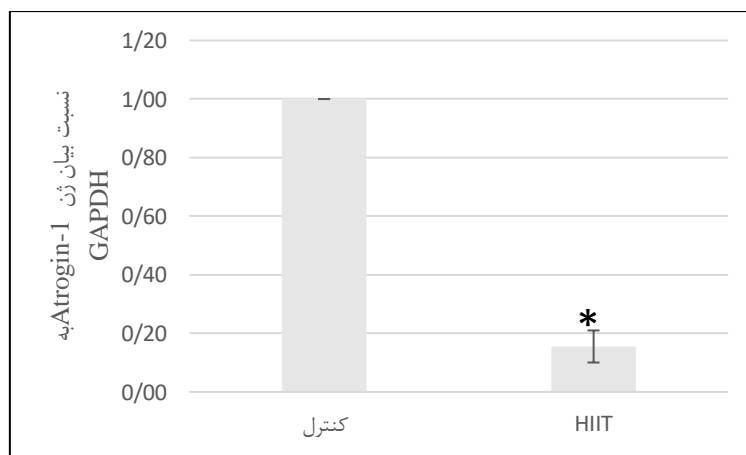
Real Time PCR: از این روش جهت اندازه‌گیری بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در بافت قلب استفاده شد. بدین منظور از برنامه Real Time PCR توسط دستگاه "Rotogene 6000, Corbet" ساخت کشور آلمان استفاده گردید. در اولین مرحله ابتدا با استفاده از ترايزول به مقدار ۷۰۰ لاند، RNA از حدود ۵۰ الی ۱۰۰ میلی‌گرم بافت عضله قلبی استخراج شد. برای اطمینان از عدم وجود DNA در نمونه استخراج شده از DNAs treatment (Thermo scientific, آلمان) در مرحله قبل از سنتز Cdna استفاده شد. سپس سنتز cDNA با استفاده از کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis kit (Roche, آلمان) و بر اساس دستورالعمل آن صورت گرفت. جهت رقیق کردن cDNA سنتز شده به مقدار ۴۰ میکرولیتر از RNase & DNase -free water استفاده شد. برای سنجش بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1، هر بار ۱/۵ میکرولیتر از هر یک از رقت‌ها به همراه ۱ میکرولیتر از پرایمر Forward، ۱ میکرولیتر از پرایمر backward و ۷/۵ میکرولیتر از Master Mix تولیدی ampliqon کشور دانمارک در ۴ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز (Nuclease -free Water) و جهت رسیدن به حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر به خوبی حل و مخلوط شدند. در این روش، تمام واکنش‌ها به صورت دابل‌کیت (دوتایی) انجام گرفت. سپس تمامی میکروتیوپ‌ها در دستگاه قرار داده شدند و ۴۰ سیکل بر اساس دستورالعمل سازنده کیت به عنوان واکنش‌های تکثیر به صورت زیر در نظر گرفته شد: به مدت ۱۵ ثانیه در دمای 95°C و پس از آن در دمای 60°C به مدت ۶۰ ثانیه قرار گرفتند. دمای دناتوراسیون اولیه 95°C و به مدت زمان ۱۰ دقیقه بود. منحنی استاندارد و تکثیر پرایمرها با استفاده نرم‌افزار موجود در سیستم تجزیه و تحلیل و سپس رسم شدند. رسم منحنی



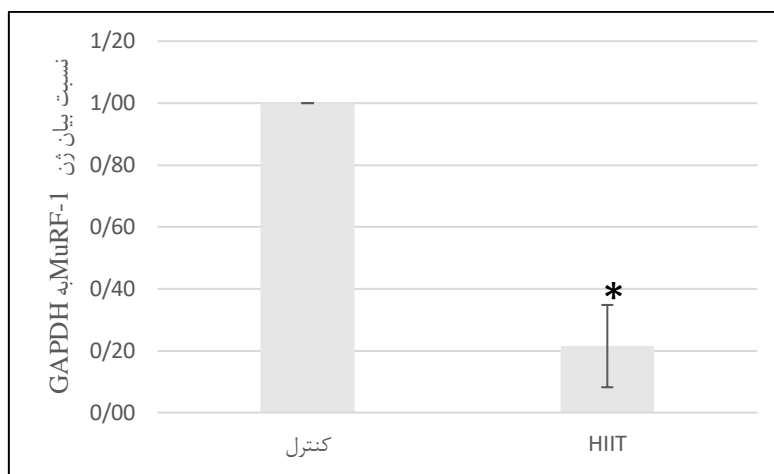
نمودار ۱: وزن عضله قلبی در گروه های پژوهش
* نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل



نمودار ۲: بیان پروتئین NF-kB در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل
* نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل



نمودار ۳: بیان ژن Atrogin-1 در بافت قلب موش های گروه HIIT و گروه کنترل
* نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل



نمودار ۴: بیان ژن MuRF-1 در بافت قلب موش های گروه HIIT و کنترل
* نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل

بحث

نتایج یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد HIIT احتمالاً با کاهش سطوح پروتئینی NF-kB و مهار بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 باعث کندی سازی آتروفی عضله قلبی و متعاقباً مهار کاهش وزن قلب در موش‌های گروه تمرینی در مقایسه با هم‌تایان بی‌تحرک گروه کنترلشان شد. علاوه بر این ما نشان دادیم که بین وزن قلب و کاهش سطوح پروتئینی NF-kB و بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در هر دو گروه یک رابطه معنادار منفی وجود دارد. در تایید این یافته‌ها محققان نشان دادند که ۳۵ هفته تمرین استقامتی دویدن به صورت ۵ جلسه در هفته با کاهش بیان NF-kB و Atrogin-1 در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان، آتروفی قلبی در این حیوانات را کند کرده و باعث افزایش وزن قلب در حیوانات این گروه نسبت به گروه کنترل می‌شود (۱۴). همچنین در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که تمرین استقامتی دویدن به صورت ۵ روز در هفته به مدت ۱۳ هفته با کاهش بیان NF-kB در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان پستان نه تنها آتروفی قلبی موش‌های مبتلا را کاهش می‌دهد بلکه مانع از کاهش وزن عضله قلبی در این گروه نیز می‌شود (۱۳). اینکه که تمرینات ورزشی در موش‌های مبتلا به سرطان مانع از کاهش وزن و توده عضله قلبی در گروه‌های مورد مداخله ورزشی نسبت به گروه کنترل می‌شود، نوید بخش مسیری جدید در آنکولوژی ورزشی جهت مقابله با این معضل می‌باشد. بر

این اساس، مهار کاهش وزن عضله قلبی گروه HIIT در تحقیق حاضر احتمالاً متأثر از تغییرات حاصله در سطوح پروتئینی NF-kB و بیان ژن‌های MuRF-1 و Atrogin-1 در عضله قلبی به سبب HIIT است که در اختلالات ساختاری و عملکردی و همچنین آتروفی عضله قلبی نقش محوری ایفا می‌کنند. از این رو فعالیت ورزشی ممکن است با مهار رشد و توسعه توده سرطانی و متعاقب آن مهار سیگنالینگ‌های حاصل از توده سرطانی (۱۵)، مکانیزم‌هایی را در عضله قلبی فعال کرده باشد که مانع از کاهش وزن هر چه بیشتر این عضو حیاتی بدن شده است (۱۳، ۱۴). در تایید این نتایج، ما نشان دادیم که هر چه بیان ژن‌های NF-kB، MuRF-1 و Atrogin-1 در عضله قلبی کمتر شد، وزن عضله قلبی در موش‌های مبتلا به سرطان نیز بیشتر شد. در این بین، مطالعات گذشته نیز ارتباط بین افزایش التهاب از جمله افزایش NF-kB و یا افزایش IL-6 در بافت قلب و کاهش وزن قلب را اثبات کرده‌اند (۱۹، ۲۰)، به نحوی که نتایج آنها با نتایج مطالعه حاضر همسو می‌باشد. آتروفی قلبی از مهم‌ترین چالش‌هایی به‌شمار می‌رود که در دوران درمان، حیات بیماران را با خطر مواجه می‌کند و حتی باعث مرگ بیماران مبتلا نیز می‌شود (۶، ۲۱). کاهش توده میوکارد ناشی از کاهش در اندازه و تعداد سلول‌های میوکاردی است که به علت مرگ سلولی می‌باشد و مهم‌ترین عامل کاهش وزن عضله قلبی و آتروفی این عضو به‌شمار می‌رود (۶). اما آنچه باعث این تغییرات در عضله قلبی می‌شود، تغییرات مکانیزمی در سلول‌های میوکاردی

اهمیت عملکرد قلبی در بیماران مبتلا به سرطان و همچنین اهمیت نقش بازدارنده HIIT در توسعه کاهش مکانیزمی التهاب سلول‌های مایوکاردیال، مهار کاهش وزن عضله قلب و متعاقباً مهار و کند کردن اختلالات قلبی ناشی از سرطان، انجام مطالعه حاضر نه تنها مسیری جدید در مطالعات آینده در حوزه آنکولوژی ورزشی پیش بالینی ایجاد کرد، بلکه انجام HIIT را به‌عنوان یک مکمل درمانی در طول دوره درمان مبتلایان به سرطان پستان جهت کاهش عوارض سرطان و عوارض درمانی آن بر عضله قلبی در این مطالعات پیشنهاد می‌کند. همچنین، ضروری به نظر می‌رسد که مطالعات آینده به ارزیابی در مطلوب تمرین ورزشی برای بهبود عملکرد قلبی عروقی، بررسی مکانیزم‌های دیگر درگیر در آتروفی قلبی ناشی از سرطان از جمله Akt، mTOR، MAPKA و Smad و ارتباط آن با تغییرات در اندازه توده سرطانی در حوزه آنکولوژی ورزشی پیش-بالینی ادامه دهند. با توجه به اهمیت بالای بهبود وضعیت قلبی در حوزه آنکولوژی، نتایج مطالعه حیوانی حاضر نیز استفاده از تمرین HIIT را به‌عنوان یک ابزار درمانی مؤثر در زمان درمان پیشنهاد می‌کند، که با تکمیل مطالعات در مراحل پیش بالینی، می‌تواند در مطالعات بالینی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین HIIT احتمالاً با تاثیر بر مکانیزم‌های سلولی و مولکولی پیام‌دهی در کاردیومیوسیت‌های قلبی شامل NF-kB، MuRF-1 و Atrogin-1، می‌تواند روند پروتئولیز، کاهش وزن و از دست رفتن توده عضله قلبی ناشی از سرطان پستان را کاهش دهد و در نهایت منجر به تقویت عضله قلبی گردد. بر این اساس، داده‌های پژوهش حاضر از تأثیر مفید HIIT بر مسیرهای بیولوژیکی اساسی درگیر در مهار آتروفی و کاهش وزن قلب و همچنین کاهش مسیر التهابی NF-kB/MuRF-1/Atrogin-1 پشتیبانی می‌کند که در نهایت منجر به بهبود وضعیت عضله قلبی پس از بروز سرطان می‌شود. با این وجود، اینکه کدام دز تمرینی در چه شدت و مدتی می‌تواند موثرتر واقع گردد، هنوز هم نیاز به مطالعات بیشتر است.

می‌باشد که ناشی از سیگنالینگ‌های سیستمیک توده سرطانی از جمله سیگنالینگ‌های فعال‌کننده سایتوکاین‌های التهابی و مایواستاتین و مهارکننده IGF-I می‌باشد (۶، ۲۲). در این راستا مشخص شده است که مسیریایی از جمله NF-kB به عنوان مهم‌ترین مسیر (مسیر پروتئولیزی و مهارکننده مسیر سنتز پروتئین)، مسیر mTOR (درگیر در سنتز پروتئین)، مسیر Akt (باعث پروتئولیز عضله قلبی)، مسیر AMPK (مهارکننده mTOR) تحت تاثیر این سیگنالینگ‌ها قرار می‌گیرند و منجر به کاهش توده قلبی در افراد مبتلا به سرطان می‌شود (۲۳). به نحوی که نشان داده شده است سرطان با فعال کردن مسیرهای پروتئولیزی عضله قلبی از جمله مسیر سایتوکاین‌های التهابی-کاسپازها، مسیر-TWEAK NF-kB و مسیر مایواستاتین-Smad2/3 و مهار مسیر سنتز پروتئین در این عضله از جمله مسیر IGF-1-Akt منجر به آتروفی عضله قلبی می‌شود (۶). در این راستا، NF-kB از تنظیم‌کننده‌های اصلی التهاب در سلول‌های عضله قلبی است (۲۴). چرا که در بیماری‌های قلبی این عامل به صورت چشمگیری افزایش می‌یابد (۲۴، ۲۵) و منجر به آتروفی سلول‌های مایوکاردیال می‌شود (۲۴). از طرفی، NF-kB تنظیم‌کننده بیان MuRF-1 و Atrogin-1 به‌شمار می‌رود (۲۶) و با فعال کردن این دو عامل در عضله قلبی (۲۷) منجر به تغییرات مخرب در ساختار عضله قلبی (۲۸) و نهایتاً آتروفی این عضو می‌شود. از این‌رو، ارتباط مستقیم مهار کاهش وزن قلب در موش‌های مبتلا به سرطان پستان در گروه‌های مداخله ورزشی مطالعه حاضر با مهار بیان ژن‌های NF-kB، MuRF-1 و Atrogin-1 نتایج مستدلی در تایید مکانیزم‌های محوری و کلیدی مذکور درگیر در آتروفی عضله قلبی می‌باشد، که نوید دهنده نقش درمانی و مکمل تمرینات ورزشی بر مشکلات قلبی ناشی از سرطان در بیماران مبتلا می‌شود و می‌تواند به عنوان نقاط قوت مطالعه حاضر تلقی گردد. در مقابل، عدم اندازه‌گیری پروتئین‌های انقباضی عضله قلب از جمله تروپونین I و زنجیره سنگین میورین نیز از نقاط ضعف مطالعه حاضر به شمار می‌رود. در نهایت، هر چند که محدودیت مطالعات با عنوان پژوهش حاضر تفسیر تاثیرات مکانیزمی HIIT بر مهار آتروفی و کاهش وزن قلب در موش‌های مبتلا به سرطان پستان را دشوار ساخته است، اما با توجه به

تشکر و قدرانی

قسمتی از یافته‌های رساله دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی به عنوان نتایج پژوهش حاضر در نظر گرفته شد. از تمامی کسانی که ما را در بخش‌های مختلف این مطالعه همراهی و یاری نمودند صمیمانه قدرانی می‌شود.

تعارض منافع

هیچ‌گونه منافع متقابلی از نگارش و تالیف این مقاله برای کلیه پژوهشگران و نویسندگان آن وجود ندارد.

References

- Argilés JM, Stemmler B, López-Soriano FJ, Busquets S. Inter-tissue communication in cancer cachexia. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019; 15(1):9-20.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018; 68(6):394-424.
- Himbert C, Delphan M, Scherer D, Bowers LW, Hursting S, Ulrich CM. Signals from the adipose microenvironment and the obesity-cancer link-a systematic review. *Cancer Prevention Research*. 2017;10(9):494-506.
- Sweeney M, Yiu A, Lyon AR. Cardiac atrophy and heart failure in cancer. *Cardiac failure review*. 2017; 3(1):62.
- Tian M, Nishijima Y, Asp ML, Stout MB, Reiser PJ, Belury MA. Cardiac alterations in cancer-induced cachexia in mice. *International journal of oncology*. 2010; 37(2):347-53.
- Murphy KT. The pathogenesis and treatment of cardiac atrophy in cancer cachexia. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2015;310(4):H466-H77.
- Hojman P, Gehl J, Christensen JF, Pedersen BK. Molecular Mechanisms Linking Exercise to Cancer Prevention and Treatment. *Cell metabolism*. 2018; 27(1):10-21.
- Delphan M, Rashidlamir A, Delfan F, Izadpanah N, Rahbarizade F. The effects of two weight loss protocol on resting plasma concentration of IL-6 in overweight and obese health sedentary female of college students. *22nd International Congress on Pediatrics*. 2010;102-03.
- Delphan M, Rashidlamir A, Delfan F. Resting plasma AgRP levels response to exercise-conjugated diet and only diet. *Biology of Sport*. 2012; 29(1):45-50.
- Schadler KL, Thomas NJ, Galie PA, Bhang DH, Roby KC, Addai P, et al. Tumor vessel normalization after aerobic exercise enhances chemotherapeutic efficacy. *Oncotarget*. 2016; 7(40):65429-40.
- Thomas VJ, Seet-Lee C, Marthick M, Cheema BS, Boyer M, Edwards KM. Aerobic exercise during chemotherapy infusion for cancer treatment: a novel randomised crossover safety and feasibility trial. *Supportive Care in Cancer*. 2019; 1-8.
- Gilchrist SC, Barac A, Ades PA, Alfano CM, Franklin BA, Jones LW, et al. Cardio-oncology rehabilitation to manage cardiovascular outcomes in cancer patients and survivors: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2019; 139(21):e997-e1012.
- Padrão AI, Nogueira-Ferreira R, Vitorino R, Carvalho D, Correia C, Neuparth MJ, et al. Exercise training protects against cancer-induced cardiac remodeling in an animal model of urothelial carcinoma. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2018; 645:12-8.
- 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 remodeling in cancer cachexia. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2015; 567:13-21.
- Delphan M, Agha Alinejad H, Delfan M, Dehghan S. Intratumoral Effects of Continuous Endurance Training and High Intensity Interval Training on Genes Expression of miR-21 and bcl-2 in Breast Cancer Bearing Female mice. *Iranian Quarterly Journal of Breast Disease*. 2017; 10(2): 49-57.
- Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European journal of*

- cardiovascular prevention and rehabilitation: official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology. 2007; 14(6):753-60.
17. Jensen MM, Jorgensen JT, Binderup T, Kjaer A. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microCT is more accurate and reproducible than determined by 18F-FDG-microPET or external caliper. *BMC medical imaging*. 2008; 8-16.
 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 research*. 2016; 76(14):4032-50.
 19. Tian M, Nishijima Y, Asp ML, Stout MB, Reiser PJ, Belury MA. Cardiac alterations in cancer-induced cachexia in mice. *International journal of oncology*. 2010; 37(2):347-53.
 20. Mantawy EM, El-Bakly WM, Esmat A, Badr AM, El-Demerdash E. Chrysin alleviates acute doxorubicin cardiotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *European journal of pharmacology*. 2014; 728:107-18.
 21. Argilés JM, López-Soriano FJ, Busquets S. Mediators of cachexia in cancer patients. *Nutrition*. 2019; 66:11-5.
 22. Springer J, Tschirner A, Haghikia A, Von Haehling S, Lal H, Grzesiak A, et al. Prevention of liver cancer cachexia-induced cardiac wasting and heart failure. *European heart journal*. 2013; 35(14):932-41.
 23. Manne ND, Lima M, Enos R, Wehner P, Carson J, Blough E. Altered cardiac muscle mTOR regulation during the progression of cancer cachexia in the ApcMin/+ mouse. *International journal of oncology*. 2013; 42(6): 2134-40.
 24. Maier HJ, Schips TG, Wietelmann A, Krüger M, Brunner C, Sauter M, et al. Cardiomyocyte-specific IκB kinase (IKK)/NF-κB activation induces reversible inflammatory cardiomyopathy and heart failure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012; 109(29):11794-9.
 25. Gaspar-Pereira S, Fullard N, Townsend PA, Banks PS, Ellis EL, Fox C, et al. The NF-κB subunit c-Rel stimulates cardiac hypertrophy and fibrosis. *The American journal of pathology*. 2012; 180(3):929-39.
 26. Wysong A, Couch M, Shadfar S, Li L, Rodriguez JE, Asher S, et al. NF-kappaB inhibition protects against tumor-induced cardiac atrophy in vivo. *The American journal of pathology*. 2011; 178(3):1059-68.
 27. Tian M, Asp ML, Nishijima Y, Belury MA. Evidence for cardiac atrophic remodeling in cancer-induced cachexia in mice. *International journal of oncology*. 2011; 39(5):1321-6.
 28. Willis MS, Wadosky KM, Rodríguez JE, Schisler JC, Lockyer P, Hilliard EG, et al. Muscle ring finger 1 and muscle ring finger 2 are necessary but functionally redundant during developmental cardiac growth and regulate E2F1-mediated gene expression in vivo. *Cell biochemistry and function*. 2014; 32(1):39-50.