

Original Article

Effect of endurance training and the consumption of gallic acid and Kaempferol on the expression of *ARC*, *VEGFa*, *HIF1α*, and *CREB1* genes in mice with breast cancer treated with paclitaxel

Zeytoon Malekpoor¹, Farzaneh Taghian^{1*}, Khosro Jalali Dehkordi¹

¹Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Abstract

Introduction: Breast cancer is the most common cancer. Therapeutic strategies reduce neurogenesis in treated patients. The present study aimed to assess the effect of endurance training along with the combination of gallic acid and Kaempferol on neurogenesis in the hippocampus caused by the side effects of paclitaxel in mice with breast cancer.

Methods: The mice were randomly assigned to six groups (n=6), including control group, the group with breast cancer injected with 4T1 cell line, the cancer group that received paclitaxel (10 mg/kg), cancer group treated with paclitaxel and gavage supplemented with Kaempferol and gallic acid, cancer group treated with paclitaxel and endurance exercise, the cancer group treated with paclitaxel and endurance training and supplements. Gene expression was measured by the Real Time-Polymerase Chain Reaction (PCR) method. Genes were selected using bioinformatics software. In this study, statistical analysis was performed using GraphPad Prism software (version 9). Data were calculated using one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test. Results were presented as mean±standard deviation. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant.

Results: The expression of *VEGFa/ARC/CREB* increased significantly ($P<0.05$) due to the consumption of gallic acid, kaempferol, and endurance training in mice treated with paclitaxel. Moreover, the expression level of *VEGFa/ARC/CREB* genes increased in the endurance training group and the supplement ($P<0.05$). On the other hand, breast cancer has increased the expression of *HIF1α* gene ($P<0.05$). Endurance training and supplement consumption significantly reduced the expression of the *HIF1α* gene ($P<0.05$).

Conclusion: Endurance training, along with gallic acid and Kaempferol, regulated the expression of *ARC*, *VEGFa*, *HIF1α*, and *CREB1* genes in the brain tissue of mice with breast cancer treated with paclitaxel.

Keywords

Breast cancer, Chemotherapy, Endurance training, Paclitaxel.

Received: 2023/08/12
Accepted: 2024/02/05

*Corresponding Author:
ft.taghian@gmail.com

Ethics Approval:
IR.IAU.KHUISF.REC.1401.104



Introduction

Breast cancer is currently the most commonly diagnosed cancer around the world. The latest global cancer statistics estimate that 2.26 million cases of breast cancer occurred in 2020, making it the leading cause of cancer-related deaths in women across the globe (1). Paclitaxel is widely used to treat breast cancer patients (2). The most critical side effect of paclitaxel is peripheral nerve toxicity, known as peripheral neuropathy (3). Moreover, studies have demonstrated that *HIF1α* increases neurogenesis in the hippocampus by activating the brain-derived neurotrophic factor signaling pathway (4). In addition, *HIF1α*, the main hypoxia-responsive transcription factor, may benefit neurogenesis since its target genes have been erythropoietin and vascular endothelial growth factor (*VEGFα*). It has been illustrated that *VEGFα* and *HIF1α* cause neurogenesis in animal models. Indeed, *VEGFα* signaling plays an essential role in neurogenesis (2). The *CREB1* and *ARC* regulate embryonic and adult neurogenesis (5). Various approaches are offered to reduce the side effects of chemotherapy in cancer patients. Physical activity may reduce cancer mortality, especially breast cancer (5). Studies have indicated that nutritional factors, herbal supplements, and their effective compounds may help cancer treatment (6). Gallic acid is a polyphenol compound with various biological activities, such as antioxidant, anti-inflammatory, anti-tumor, antiviral, and antibacterial effects (7). Kaempferol is another aglycone flavonoid in glycoside form. Protecting the proper functioning of the cardiovascular and nervous systems, as well as antioxidant, anti-inflammatory, anti-diabetic, antimicrobial, and anticancer activities, are among the activities of the effective composition of Kaempferol (7).

In light of the aforementioned issues, the present study aimed to assess the effect of endurance training in combination with acid and Kaempferol on the neurogenic of the brain caused by the side effects of paclitaxel.

Materials & Methods

All protocols and interventions of laboratory animals were reviewed and approved by the Ethics Committee of Islamic Azad University, Khorasan branch (IR.IAU.KHUISF.REC.1401.104). A total of 36 female mice were purchased from the Isfahan Royan Institute from the BALB/c strain (aged seven weeks, weighing 18 ± 2 grams). The mice were randomly assigned to six groups, including control group (n=6), the group with breast cancer injected with 4T1 cell line (n=6), the cancer group that received paclitaxel (10 mg/kg), cancer group treated with paclitaxel and gavage supplemented with Kaempferol and gallic acid, cancer group treated with paclitaxel and endurance exercise, the cancer group treated with paclitaxel and endurance training and supplements. In this study, we reviewed DisGeNet and STRING databases to determine critical genes in breast cancer and cognitive disorders.

Breast tumor induction method

4T1 cell line was used to induce breast cancer. 4T1 cells were obtained from the Pasteur Institute of Tehran and cultivated in the cell culture laboratory to achieve the required cells. Finally, 24 hours after the last training and treatment session, the mice were anesthetized with ketamine and xylazine at a ratio of 10 mg to 1 mg, and the hippocampal brain tissue was isolated for further experiments and sent to the laboratory by maintaining a cold temperature chain.

Chemotherapy guidelines

10 mg/kg body weight of mice paclitaxel and dimethyl sulfoxide (DMSO) were injected intraperitoneally daily for seven consecutive days (8).

Instructions for endurance training

A week after adaptation, it was performed for 10-15 minutes at a speed of 8-12 meters per minute. Eight weeks of endurance training with a slope of 0 degrees, at a speed of 18 m/min for 30 minutes, and moderate intensity exercises were performed five days a week (9).

Consumption of gallic acid and Kaempferol

200 mg/kg body weight of mice of gallic acid and kaempferol (Sigma Company) was dissolved in 5% DMSO and fed to mice by oral gavage for eight weeks (10).

Examining the expression of genes by Real-time polymerase chain reaction method

RNA extraction from brain hippocampal tissue was performed using the Trizol method based on the Yekta Tehiz Azma company protocol. cDNA synthesis was performed according to the BIOFACT kit protocol. Gene expression analysis was performed and evaluated using the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using GraphPad Prism software (version 9). Moreover, in this study, the Shapiro-Wilk test was used for the normality of the data. All data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test. Results were expressed as mean \pm standard deviation. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant.

Results

In bioinformatic analysis, the list of genes to breast cancer includes 6,941 genes, and the

list of genes related to cognition comprises 1,630 genes. Tumor size has significantly decreased compared to the positive control group due to consuming bioactive compounds of gallic acid and Kaempferol and performing endurance exercises ($P<0.05$; Figure 1). It was revealed that the expression of *VEGFa/ARC/CREB* was significantly decreased in the positive control group. The expression level of *VEGFa/ARC/CREB* genes in the paclitaxel group significantly decreased compared to the breast cancer group ($P<0.05$; Figure 2 a-c). Moreover, the data indicated that the relative expression of *VEGFa/ARC/CREB* increased significantly in supplement+paclitaxel and exercise+paclitaxel groups ($P<0.05$; Figure 2 a-c). In addition, the simultaneous performance of endurance exercise and supplemental consumption of bioactive compounds (exercise+supplement+paclitaxel) increased the expression of *VEGFa/ARC/CREB* genes compared to other groups ($P<0.05$; Figure 2 a-c). The expression of the *HIF1α* gene in the positive control group was significantly increased compared to the control group ($P<0.05$; Figure 3). The level of *HIF1α* gene expression increased significantly compared to the positive control group ($P<0.05$; Figure 3).

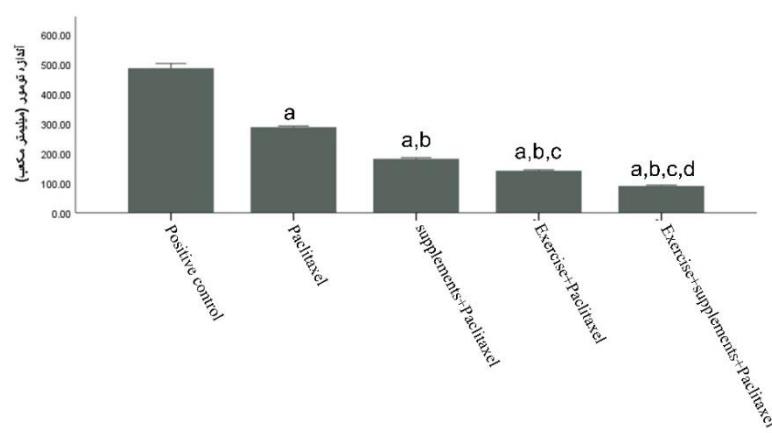


Figure 1: Effect of Kaempferol, Gallic acid, and endurance training on tumor size in mice with breast cancer

Data are displayed as mean \pm standard deviation. Tukey's post hoc test was used to identify significant differences between groups. Figure a indicates a significant difference between the experimental groups and the positive control group ($P<0.05$). Figure b suggests a significant difference between the experimental groups and paclitaxel group ($P<0.05$). Figure c displays a significant difference between the experimental groups and the supplement+paclitaxel group ($P<0.05$). Figure d depicts a significant difference between the experimental groups with exercise+paclitaxel group ($P<0.05$).

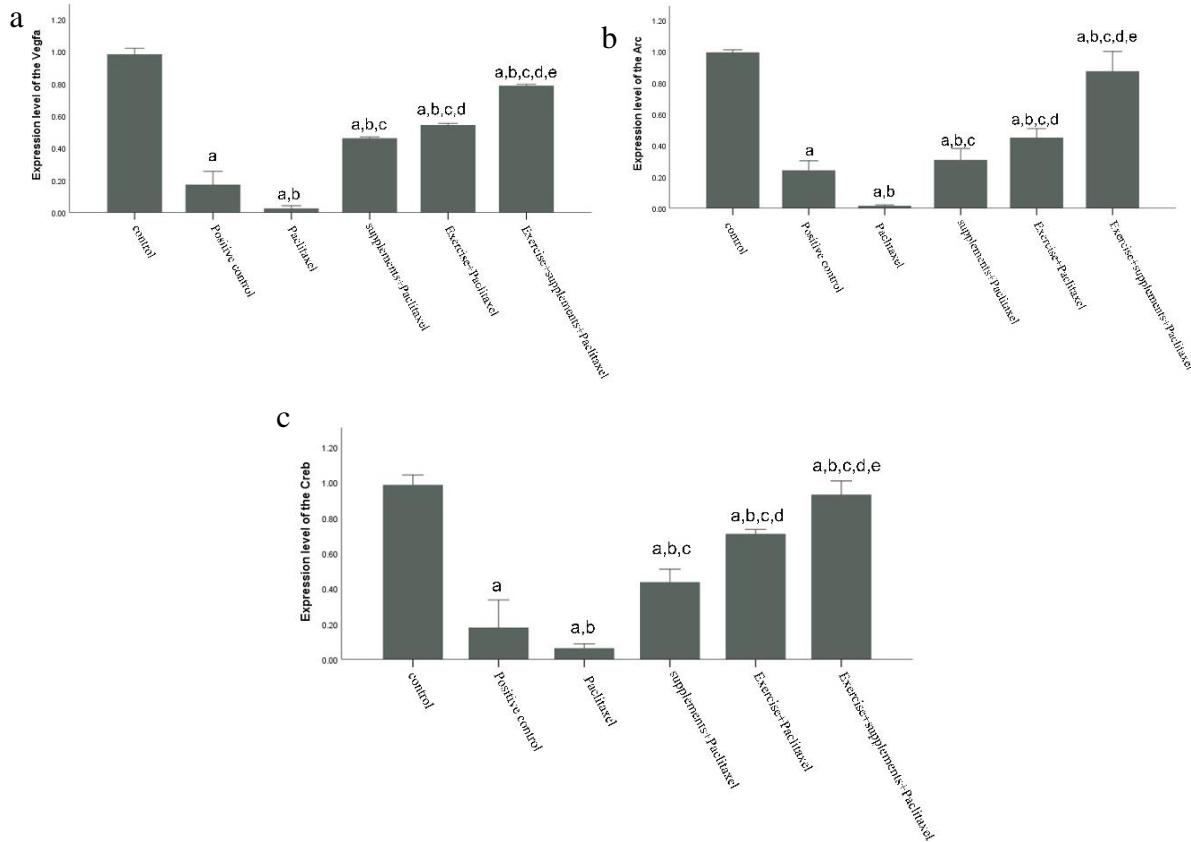


Figure 2: effect of Kaempferol, Gallic acid supplementation, and endurance training on the expression of *VEGFA/ARC/CREB* genes in the hippocampal tissue of the brain of mice with breast cancer. Figure a indicates a significant difference between the experimental groups and the positive control group ($P<0.05$). Figure b presents a significant difference between the experimental groups and paclitaxel group ($P<0.05$). Figure c suggests a significant difference between the experimental groups and the supplement+paclitaxel group ($P<0.05$). Figure d illustrates a significant difference between the experimental groups and exercise+paclitaxel group ($P<0.05$).

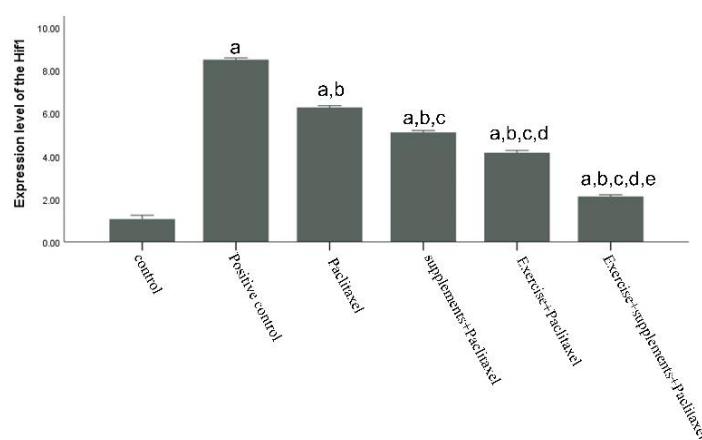


Figure 3: effect of kaempferol, gallic acid supplementation, and endurance training on the expression of *HIF1α* gene in the hippocampal tissue of mice with breast cancer. Figure a indicates a significant difference between the experimental groups and the positive control group ($P<0.05$). Figure b suggests a significant difference between the experimental groups and paclitaxel group ($P<0.05$). Figure c illustrates a significant difference between the experimental groups and the supplement+paclitaxel group ($P<0.05$). Figure d indicates a significant difference between the experimental groups with exercise+paclitaxel group ($P<0.05$).

Discussion

This study revealed that chemotherapy with paclitaxel caused a significant decrease in the expression of *VEGFa/ARC/CREB* and a marked increase in the *HIF1 α* gene compared to the positive control group. Studies have pointed out that paclitaxel (10 mg/kg) causes significant cognitive impairment, along with changes in synaptic plasticity (11). It has been reported that the expression level of *VEGFa/ARC/CREB* genes increased, and the level of *HIF1 α* gene expression decreased due to endurance training. A few studies have revealed that exercise programs can improve cognitive disorders (12). This study found that *HIF1 α* gene expression in the paclitaxel group decreased significantly compared to the positive control group. On the other hand, the expression of the *HIF1 α* gene has significantly decreased due to the consumption of gallic acid and kaempferol bioactive compounds and endurance training compared to mice induced with breast cancer and paclitaxel group. This research determined that the simultaneous use of gallic acid, kaempferol supplements, and endurance training has caused a significant decrease in *HIF1 α* gene expression compared to other groups.

The expression level of *VEGFa/ARC/CREB* genes increased significantly, and the expression level of the *HIF1 α* gene decreased due to the consumption of gallic acid and kaempferol supplements in mice treated with chemotherapy by paclitaxel in mice with breast cancer. As a result, chemotherapy with paclitaxel reduces neurogenesis; moreover, endurance exercises and the use of gallic acid and kaempferol supplements can mitigate disruption in neurogenesis. Kaempferol induces cell apoptosis and senescence in human cervical cancer cells by downregulating PI3K/AKT pathways (13).

Conclusion

As evidenced by the obtained results, gallic acid, kaempferol supplements, and endurance exercises in mice treated with chemotherapy by paclitaxel in mice with breast cancer caused

an increase in the expression of *VEGFa/ARC/CREB* genes.

References

1. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *Ca Cancer J Clin.* 2023;73(1):17-48.
2. Li G, Zhao M, Cheng X, Zhao T, Feng Z, Zhao Y, et al. FG-4592 improves depressive-like behaviors through HIF-1-mediated neurogenesis and synapse plasticity in rats. *Neurotherapeutics.* 2020;17:664-75.
3. Pavlidis N. Cancer and pregnancy: what should we know about the management with systemic treatment of pregnant women with cancer? *European Journal of Cancer.* 2011;47:S348-S52.
4. Abedpoor N, Taghian F, Hajibabaie F. Physical activity ameliorates the function of organs via adipose tissue in metabolic diseases. *Acta histochemica.* 2022;124(2):151844.
5. Leung H-W, Foo G, VanDongen A. Arc regulates transcription of genes for plasticity, excitability and Alzheimer's disease. *Biomedicines.* 2022;10(8):1946.
6. Kaviani E, Hajibabaie F, Abedpoor N, Safavi K, Ahmadi Z, Karimy A. System biology analysis to develop diagnostic biomarkers, monitoring pathological indexes, and novel therapeutic approaches for immune targeting based on maggot bioactive compounds and polyphenolic cocktails in mice with gastric cancer. *Environmental Research.* 2023;238:117168.
7. Bai J, Zhang Y, Tang C, Hou Y, Ai X, Chen X, et al. Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy.* 2021;133:110985.
8. Sólomo AM, Santacruz MS, Vanzulli S, Coggiola O, de Kier Joffé EB, Finkelsztein L, et al. Anti-metastatic action of an N4-aryl substituted thiosemicarbazone on advanced triple negative breast cancer. *Heliyon.* 2020;6(10): e05161.

9. Vulczak A, Souza AdO, Ferrari GD, Azzolini AECS, Pereira-da-Silva G, Alberici LC. Moderate exercise modulates tumor metabolism of triple-negative breast cancer. *Cells*. 2020;9(3):628.
10. Wang T, Wu Q, Zhao T. Preventive effects of Kaempferol on high-fat diet-induced obesity complications in C57BL/6 mice. *BioMed research international*. 2020;2020: 4532482.
11. Hajibabaie F, Abedpoor N, Mohamadynejad P. Types of cell death from a molecular perspective. *Biology*. 2023;12(11):1426.
12. Hartman SJ, Nelson SH, Myers E, Natarajan L, Sears DD, Palmer BW, et al. Randomized controlled trial of increasing physical activity on objectively measured and self-reported cognitive functioning among breast cancer survivors: The memory & motion study. *Cancer*. 2018;124(1):192-202.
13. Yoshida T, Konishi M, Horinaka M, Yasuda T, Goda AE, Taniguchi H, et al. Kaempferol sensitizes colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2008;375(1):129-33.

مقاله پژوهشی

مجله علمی

بیماری‌های پستان ایران

۱۴۰۳:۱۷(۱):۲۲-۴۰

تأثیر تمرینات استقامتی و مصرف گالیک اسید و کامپفروول بر بیان ژن‌های *CREB1* و *HIF1α*, *VEGFA* و *ARC* در موش‌های مبتلا به سرطان

پستان تحت درمان با داروی پاکلیتاسل

زیتون ملک‌پور^۱، فرزانه تقیان^{۱*}، خسرو جلالی دهکردی^۱

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوارسگان)، اصفهان، ایران

چکیده

مقدمه: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان است. استراتژی‌های درمانی سبب کاهش نورونزایی در بیماران تحت درمان می‌شود. هدف تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرینات استقامتی و مکمل گالیک اسید و کامپفروول بر نورونزایی در هیپوکمپ، ناشی از عوارض جانبی مصرف پاکلیتاسل در موش‌های مبتلا به سرطان پستان است.

روش بررسی: بطور تصادفی موش‌ها به شش گروه (n=6) شامل: گروه کنترل، گروه مبتلا به سرطان پستان با تزریق رده سلولی 4T1، گروه سرطانی که داروی پاکلیتاسل (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت شد، گروه سرطانی تحت تیمار با پاکلیتاسل و گواژ مکمل کامپفروول و گالیک اسید، گروه سرطانی تحت تیمار با پاکلیتاسل و تمرین استقامتی، گروه سرطانی تحت تیمار با پاکلیتاسل و تمرین استقامتی و مکمل تقسیم شدند. بیان ژن‌ها به روش Real Time-PCR سنجیده شد. ژن‌ها به کمک نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک انتخاب شدند. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار GraphPad-Prism نسخه ۹ انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون Tukey's post hoc محاسبه گردید. نتایج به عنوان میانگین ± انحراف استاندارد نشان داده شد و $P < 0.05$ نشان‌دهنده معنی‌داری است.

تاریخ ارسال: ۱۴۰۲/۰۵/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۶

* نویسنده مسئول:
ft.taghian@gmail.com

یافته‌ها: بیان VEGFA/ARC/CREB در اثر مصرف گالیک اسید، کامپفروول و تمرینات استقامتی در موش‌های شیمی درمانی شده افزایش یافت ($p < 0.05$). همچنین، بیان VEGFA/ARC/CREB در گروه تمرین استقامتی همراه با مصرف مکمل افزایش یافت ($p < 0.05$). سرطان پستان سبب افزایش بیان HIF1α شده است ($p < 0.05$). تمرین استقامتی و مصرف مکمل میزان بیان HIF1α را بطور معنی‌داری کاهش داده است ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی و مصرف گالیک اسید و کامپفروول سبب تنظیم بیان VEGFA، ARC و HIF1α در بافت مغز موش‌های مبتلا به سرطان پستان می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، سرطان پستان، شیمی درمانی، پاکلیتاسل

می‌سازد (۱۱). سمیت عصبی مرکزی به صورت انسفالوپاتی حاد، آتاکسی، پریشانی عاطفی، اختلال شناختی و تغییرات خلقوخو از جمله استرس و اضطراب ظاهر می‌شود (۱۱،۱۰). پاکلیتاسکسل با اتصال به زیر واحد β -توبولین سبب افزایش سختی میکروتوبول و پایداری نابهنهنگام آن شده و سلول را در فاز M چرخه سلولی را متوقف کرده و از تقسیم سلولی جلوگیری می‌کند و سبب مرگ سلولی می‌شود. پاکلیتاسکسل با ایجاد پایداری نابهنهنگام در میکروتوبول، سبب اختلال در سیتواسکلتون می‌شود و تعادل دینامیک بین باز و بسته شدن میکروتوبولها را تغییر داده و با مختل کردن تشکیل دوک متافازی سبب توقف میتوуз در G2/M می‌شود (۱۲). این دارو با یک نیمه عمر کوتاه متابولیزه می‌شود و به همین دلیل به منظور دستیابی به غلظت موردنیاز در طی دوره‌های مناسب زمانی، استفاده مکرر از دوزهای نسبتاً بالا ضروری است (۱۳). رده سلولی 4T1 یک رده سرطان پستان سه‌گانه منفی (TNBC^۱) است که تحت تأثیر مسیر سیگنالینگ PI3k-Akt-mTOR به داروهای هورمون درمانی یا داروهایی که پروتئین HER2 را هدف قرار می‌دهند پاسخ نمی‌دهد.

فعال شدن سیگنال‌دهی فاکتور ۱ القایی با هیپوکسی^۲ (HIF1α) در طیف وسیعی از سرطان‌های انسانی به دلیل هیپوکسی تومور و مکانیسم‌های اپی‌ژنتیک مشاهده می‌شود (۱۴). فعال‌سازی HIF1α منجر به رونویسی تعداد زیادی از ژن‌های هدف می‌شود که تغییرات فیزیولوژیکی مرتبط با مقاومت درمانی، از جمله مهار آپوپتوز و پیری و فعال‌سازی جریان دارو و متابولیسم سلولی را افزایش می‌دهند (۱۴). در نتیجه، هدف قرار دادن HIF1α نشان دهنده یک استراتژی جذاب برای افزایش اثربخشی درمان‌های فعلی و همچنین کاهش مقاومت در برابر شیمی درمانی در تومورها است (۱۴). از طرفی، مطالعات نشان داده است که HIF1α سبب افزایش نوروژنز در هیپوکامپ از طریق فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز^۳ (BDNF) می‌گردد (۱۵).

علاوه بر این، HIF1α که فاکتور رونویسی اصلی پاسخ دهنده به هیپوکسی است، ممکن است اثرات مفیدی بر نوروژنز ایجاد کند، زیرا ژن‌های هدف آن اریتروپویتین

^۱ Triple-negative breast cancer

^۲ Hypoxia-inducible factor 1-alpha

^۳ Brain-derived neurotrophic factor

مقدمه

سرطان پستان در حال حاضر شایع‌ترین سرطان تشخیص داده شده در جهان است. آخرین آمار جهانی سرطان تخمین می‌زند که در سال ۲۰۲۰، ۲/۲۶ میلیون مورد سرطان پستان رخ داده است و این بیماری عامل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان در سراسر جهان است (۱). پیشرفت در استراتژی‌های تشخیصی و درمانی در سرطان‌شناسی شناس شناس بقای بیماران سرطانی، حتی مبتلایان به بیماری متاستاتیک را به میزان قابل توجهی افزایش داده است (۲).

با این حال، مطالعات نشان داده است استراتژی‌های درمانی سبب کاهش نورون‌زاوی و عملکرد نورون‌ها در بیماران تحت درمان، به ویژه در طول و بعد از شیمی درمانی، می‌شود (۳). نسل‌های جدید درمان‌های هورمونی، درمان‌های هدفمند و ایمونوتراپی منجر به بهبود نرخ بقای میزان نورون‌زاوی و عملکرد نورون‌ها دارند (۴). در نتیجه، تأثیر منفی درمان طولانی‌مدت با داروهای شیمی درمانی بر عملکرد عصبی یک موضوع مهم از نظر کیفیت زندگی است (۵،۶). تحقیقات مدل حیوانی در تأیید اختلالات عصبی مرتبط با سرطان به عنوان یک وضعیت پزشکی در بازماندگان سرطانی که شیمی درمانی می‌شوند، مفید بوده است. مطابق مطالعات بالینی و پیش بالینی، محققان تأیید کرده‌اند که داروهای ضدسرطانی معمولاً سبب ایجاد اختلالات عصبی و کاهش نورون‌زاوی در طولانی‌مدت می‌شود (۷).

پاکلیتاسکسل به صورت گسترده برای درمان بیماران مبتلا به سرطان پستان استفاده می‌شود (۸). پاکلیتاسکسل به β -توبولین میتوکندری متصل می‌شود و با باز کردن منافذ انتقال (mPTP) نفوذپذیری و افزایش کلسیم باعث آسیب به میتوکندری می‌شوند که این امر منجر به آپوپتوز و نکروز سلول سرطانی می‌شود (۷). یکی از عوارض جانبی استفاده از این دارو، سمیت دستگاه عصبی است که بر سیستم اعصاب محیطی و مرکزی اثرگذار است (۹).

مهم‌ترین عارضه جانبی پاکلیتاسکسل سمیت عصب محیطی است که تحت عنوان نوروپاتی محیطی شناخته می‌شود (۱۰). نوروپاتی مزمن به طور قابل توجهی بر کیفیت زندگی بیمار در درازمدت اثرگذار است و منجر به کاهش دوز یا خاتمه شیمی‌درمانی شده و موققیت در درمان را محدود

مغز شود. این اثرات نشان می‌دهند که تمرينات ورزشی می‌تواند ابزاری جهت پیشگیری در برابر چالش اکسیداتیو مربوط به تحریب عصبی باشد (۲۴). تمرين هوایی می‌تواند متابولیسم مغز را بهبود بخشد و بیان فاکتور رشد را تنظیم کند که این امر منجر به انعطاف‌پذیری سیناپسی، نوروژن، و رگ‌زایی می‌شود و می‌تواند اثر مستقیمی بر عملکرد عصبی بگذارد (۲۵، ۲۱).

از طرفی، مطالعات نشان داده‌اند که عوامل تغذیه‌ای، مکمل‌های گیاهی و ترکیبات موثر آن‌ها نیز ممکن است اثرات شیمی درمانی را تحت تأثیر قرار داده و به درمان سرطان کمک کنند (۲۶، ۲۴). ترکیبات موثره از طریق کاهش یا حذف عوارض داروهای شیمی درمانی و کاهش مقاومت به این داروها می‌توانند اثربخشی درمان را بهبود ببخشند (۲۶). گالیک اسید یک ترکیب پلی‌فنول با فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف مانند آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضدتومور، ضدویروسی و ضدباکتری است (۲۷). مکمل گالیک اسید یک آنتی‌اکسیدان قوی و از مهم‌ترین ترکیبات پلی‌فنولی در گیاهان است قابلیت عبور از سد خونی مغزی را دارد و بنابراین بر عملکرد شناختی و مغز موثر می‌باشد (۲۸). کامپفروول یکی دیگر از فلاونوئیدهای آگلیکون به شکل گلیکوزید است. حفاظت از عملکرد صحیح سیستم قلبی-عروقی و سیستم عصبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضددیابتی، ضدمیکروبی و ضدسرطانی از فعالیت‌های ترکیب موثره کامپفروول است (۲۹). کامپفروول یک فیتواستروژن متعلق به فلاونوئیدها است، که بیشتر در میوه‌ها و گیاهان یافت می‌شود. Kaempferol فعالیت‌های بالقوه ضدباکتری، ضد اکسیداتیو، ضدالتهابی و ضدتوموری را نشان می‌دهد (۳۰). کامپفروول با فعال کردن MEK-MAPK باعث مهار رشد و آپوپتوز در سلول‌های سرطان ریه می‌شود و از طریق مهار مسیرهای AKT/PI3K و ERK و فعال کردن مسیر آپوپتوز میتوکندری، کشتن سلول‌های سرطانی ریه را با تشبع در شرایط *in vitro* و *in vivo* افزایش می‌دهد (۳۱). کامپفروول به عنوان یک عامل ضدسرطان با برقراری مجدد ارتباط بین سلولی شکاف از طریق افزایش بیان و فسفوریلاسیون پروتئین کانکسین ۴۳ در سلول‌های سرطان روده بزرگ و حساس کردن سلول‌های سرطانی کولون به آپوپتوز ناشی از فاکتور نکروز تومور عمل می‌کند.

(VEGFA) و فاکتور رشد اندوتیال عروقی (EPO) بوده‌اند. نشان داده شده است VEGFA و HIF1α نوروژن در مدل‌های حیوانی می‌شود. در واقع، سیگنال‌دهی VEGFA نقش اساسی در نوروژن ایفا می‌کند (۱۵).

مطالعات نشان داده است که CREB1 و ARC در تنظیم نوروژن جنبی و بالغ نقش دارد (۱۷، ۱۶). از سویی، مشخص شده است که ژن ARC جهت ذخیره‌سازی اطلاعات طولانی‌مدت در مغز پستانداران ضروری است. همچنین، در شکل‌پذیری سیناپسی و اختلالات رشد عصبی نقش کلیدی دارد (۱۶). CREB1 و ARC می‌توانند شکل‌پذیری سیناپسی را از طریق گیرنده‌های گلوتامات نوع^۱ AMPA تنظیم کند. بیان ژن CREB1 و ARC در مغز بسیار پویا و فعال است. رونویسی CREB1 و ARC به شدت با رمزگذاری اطلاعات در مدارهای عصبی در داخل بدن همراه است (۱۸، ۱۶).

رویکردهای مختلفی جهت کاهش عوارض شیمی درمانی در بیماران مبتلا به سرطان ارائه می‌شود. تحقیقات متعدد نشان داده است که فعالیت بدنی منظم می‌تواند زنده مانی افراد مبتلا را از طریق کاهش عوارض جانبی شیمی درمانی، افزایش دهنده (۱۹). برخی از مطالعات مشاهده‌ای آینده‌نگر نشان دادند که فعالیت بدنی پس از تشخیص سرطان ممکن است مرگ و میر ناشی از سرطان را به ویژه در سرطان پستان کاهش دهد (۲۰). فعالیت بدنی مخصوصاً به صورت هوایی می‌تواند باعث افزایش شکل‌پذیری سیناپسی و القای نوروژن شود و تأثیر مستقیم و مثبتی بر عملکرد مغز دارد (۲۱).

مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهند، بین فعالیت ورزشی و سرطان پستان رابطه نزدیکی وجود دارد. اگرچه کمبود مطالعات تجربی کنترل شده، که رابطه موجود و سازوکارهای درگیر را آزمایش کرده باشند، اساس وجود این رابطه را تضعیف می‌کند (۲۲). از طرف دیگر استفاده از مدل‌های حیوانی برای فهم بهتر سازوکارهای مرتبط با فعالیت ورزشی و سرطان لازم است. مورفی و همکارانش نیز کاهش حجم تومور را به دنبال تمرينات هوایی، در موش‌های سرطانی مشاهده کردند و آن را به افت عوامل التهابی نسبت دادند (۲۳). تمرين هوایی می‌تواند با تحریک سیستم آنتی‌اکسیدان منجر به کاهش اکسیداتیو

^۱ AMPA-type glutamate receptors

استقامتی (گروه تمرین و پاکلیتاکسل) ($n=6$)، گروه موش‌های سلطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاکسل، تمرین استقامتی و گواز مکمل ترکیبات زیست فعال کامپیفول و گالیک اسید (گروه تمرین و مکمل و پاکلیتاکسل) ($n=6$) تقسیم شدند.

• دستور العمل تجزيه و تحليل سیستم بیولوژی

در این مطالعه به منظور تعیین ژن‌های کلیدی در محور سرطان پستان و اختلالات شناختی به مرور پایگاه داده STRING و DisGeNet مربوط به شناخت با شناسه C0338656 و لیست ژن‌های مرتب با سرطان پستان با شناسه C0006142 دریافت شد. ژن‌های مشترک بین این دو لیست ژنی به عنوان ژن‌های کلیدی مشترک دخیل در محور سرطان پستان و VENNY اختلالات شناختی توسط ابزار بیانفورماتیکی مشخص گردید. شبکه تعاملات ژن‌های مشترک بر اساس داده کاوی و غنی‌سازی داده‌ها در پایگاه داده STRING رسم و براساس پارامترهای شبکه در نرمافزار CytoScape آنالیز گردید. از میان 10^{49} ژن مشترک در محور سرطان پستان و اختلالات شناختی، تغییرات بیان سه ژن ARC، HIF1 α , VEGF α و CREB1 به عنوان مارکرهای اختلالات شناختی مرتب با سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت. غنی‌سازی داده‌ها Enrich-R مسیرهای سیگنالینگ مولکولی و سلولی مرتب با ژن‌های مشترک را مشخص کرد.

روش القا تومور پستان

قبل از شروع مداخلات، ابتدا موش‌ها سرطانی شده و داروی شیمی درمانی دریافت کردند. جهت القای سرطان پستان از رده سلولی 4T1 استفاده شد. سلول‌های 4T1 از انسستیتو پاستور تهران تهیه و به منظور دستیابی به میزان موردنیاز از سلول در محیط آزمایشگاه کشت سلول، کشت داده شدند. بعد از شمارش سلولی و اطمینان از رسیدن سلول‌ها به تعداد مورد نیاز، سوسپانسیون سلولی با تراکم 10^6 سلول از رده سلولی 4T1 در هر 1 mL از بافر نمک فسفات (PBS) تهیه گردید (۳۳). سپس به هر موش تعداد 3.5×10^4 سلول از رده سلولی 4T1 در BALB/c هر $100\text{ }\mu\text{L}$ PBS به صورت زیر جلدی و به پد چربی یستانی، تزریق شد. لازم به ذکر است که اندازه تومورها

گرچه نقش ضدسرطانی کامپفروول در سرطان پستان گزارش شده است، اثر کامپفروول بر TNBC نامشخص است. شوشان لی و همکاران نشان داد که دوز کم کامپفروول (۲۰ میکرومول در لیتر) اثر مهاری قوی بر مهاجرت و تهاجم سلول‌های TNBC دارد. دوز کم کامپفروول باعث کاهش فعالیت RhoA و Rac1 در سلول‌های TNBC شد (۳۲).

هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرينات استقامتی همراه با مصرف ترکیب گالیک اسید و کامپیفروول بر نوروزنر مغز ناشی از عوارض جانبی مصرف داروی پاکلیتاکسل بر اساس سنجش تغییرات بیان ژن‌های VEGF α , HIF1 α , CRAB1 و آنالیز داده‌های بیوانفورماتیکی در بافت مغز در موش‌های مبتلا به سرطان پستان به عنوان مارکرهای نوروزنر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع مطالعات تجربی است. که در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان انجام شد. کلیه پرتوکل های و مداخلات حیوانات آزمایشگاهی در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (IR.IAU.KHUISF.REC.1401.104) مورد بررسی و تأیید شده است. در این مطالعه ۳۶ سر موش ماده از سویه (BALB/c) با سن ۷ هفته وزن 18 ± 2 گرم از موسسه زیست فناوری رویان اصفهان خریداری شد. موش ها در خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) در شرایط استاندارد رطوبت 55 ± 5 و دمای 22 ± 4 درجه سانتی گراد با رعایت چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. موش ها پس از یک هفته سازگاری بطور تصادفی به شش گروه شامل: گروه سالم بدون مداخله (گروه کنترل) ($n=6$ ، گروه مبتلا به سلطان پستان با تزریق 3.5×10^4 سلول از رده سلولی 4T1 به صورت زیرجلدی و به پد چربی پستانی (گروه کنترل مثبت) ($n=6$ ، گروه موش های سلطانی که داروی پاکلیتاسکسل (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) را جهت شیمی درمانی دریافت کرده اند (گروه پاکلیتاسکسل) ($n=6$ ، گروه موش های سلطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاسکسل و گواژ مکمل ترکیبات زیست فعال کامپفرون و گالیک اسید (گروه مکمل و پاکلیتاسکسل) ($n=6$ ، گروه موش های سلطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاسکسل و تمرين

- مصرف گالیک اسید و کامپفروول ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش از گالیک اسید و کامپفروول (شرکت سیگما) در ۵% DMSO حل شده و به مدت ۸ هفته به صورت گاواز دهانی به موش‌ها خورانده شد (۳۷).

- بررسی بیان ژن‌ها با روش Real time PCR استخراج RNA از بافت هیپوکامپ مغز با روش ترایزول براساس پروتوكل شرکت سازنده یکتا تجهیز آزمایش انجام شد. میزان خالص بودن و کیفیت RNA با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری نانو دراپ در طول موج‌های ۲۶۰/۲۸۰ انجام شد. سنتز cDNA مطابق پروتوكل کیت Real- BIFACT انجام گرفت. با استفاده از تکنیک Corbett rotor gene Time qPCR توسط دستگاه ۶۰۰۰ میزان بیان ژن‌های موردنظر ارزیابی شد. توالی Beacone پرایم‌ها به کمک نرم‌افزارهای ۷ Oligo و ۷ designer عنوان ژن خانه گردان در این پژوهش استفاده شد. آنالیز بیان ژن بیان ژن‌ها با استفاده از روش $\Delta\Delta^{CT}$ محاسبه و ارزیابی شد.

به وسیله حجم تومور توسط کالیپر دیجیتال مورد محاسبه قرار گرفت (۳۴). درنهایت، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و تیمار، موش‌ها با داروهای شیمیایی کتابخانه زایلزین با نسبت ۱۰ میلی‌گرم به ۱ میلی‌گرم بیهوده شدند و بافت هیپوکامپ مغز برای آزمایش‌های بیشتر جدا شد و با حفظ زنجیره دمایی سرد به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوارسگان منتقل و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد ذخیره شد.

- دستورالعمل شیمی درمانی ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش پاکلیتاسل همراه با دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) به مدت ۷ روز متوالی روزی یکبار به صورت درون صفاقی تزریق شد. تیمار با داروی پاکلیتاسل پس از گذشت یک هفته از اجرای دستورالعمل القای سرطان اجرا گردید (۳۵).

- دستورالعمل تمرین استقامتی یک هفته پس از سازگاری با زمان ۱۰-۱۵ دقیقه و سرعت ۸-۱۲ متر در دقیقه انجام شد. هشت هفته تمرین استقامتی با شیب ۰ درجه، با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه و برای ۵ روز در هفته، تمرینات با شدت متوسط انجام شد (۳۶).

جدول ۱: توالی پرایم‌ها

ژن‌ها	پرایم رفت (۵'-۳')	پرایم برگشت (۵'-۳')	دماهی اتصال
VEGF α	CTGCTGTAAACGATGAAGCCCTG	GCTGTAGGAAGCTCATCTCTCC	۶۰
CREB	CACAGACCCTGATGGACAGCA	AGGACGCCATAACAACCTCCAGG	۶۲
BDNF	GGCTGACACTTTGAGCACGTC	CTCCAAAGGCACTTGACTGCTG	۶۰
ARC	GCTGGAAGAAGTCCATCAAGGC	ACCTCTCCAGACGGTAGAAGAC	۶۰
GAPDH	CATCACTGCCACCCAGAAGACTG	ATGCCAGTGAGCTTCCGTTCAAG	۶۰

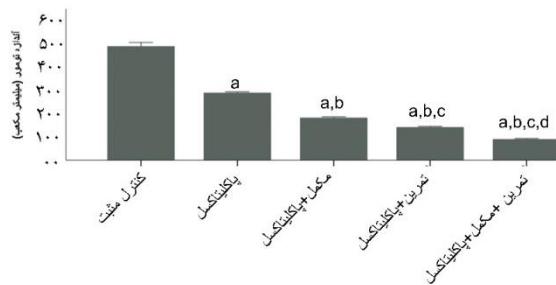
تفاوت در $P.value < 0.05$ نشان‌دهنده معنی‌داری در تمام تحلیل‌ها بود.

یافته‌ها

- ژن‌های دخیل در محور سرطان بستان - نوروزن در بررسی و آنالیزهای بیوانفورماتیکی، لیست ژن‌های مرتبط با سرطان بستان شامل ۶۹۴۱ ژن و لیست ژن‌های مرتبط با شناخت شامل ۱۶۳۰ ژن می‌باشد. اشتراکات ژنی

• تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۹ (Graph Pad Software Inc., La Jolla, CA) انجام شد. همچنین در این مطالعه از آزمون Shapiro-Wilk برای نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. تمامی داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون Tukey's post hoc محاسبه شد. نتایج به عنوان میانگین \pm انحراف استاندارد (SD) نشان داده شد، و



شکل ۱: تأثیر مصرف مکمل کامپفروول، گالیک اسید و تمرین استقاماتی بر اندازه تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. a برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. b نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل مثبت می باشد ($p<0.05$). c نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی شده (گروه پاکلیتاسکسل) می باشد ($p<0.05$). d نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی + تمرین استقاماتی (گروه تمرین + پاکلیتاسکسل) می باشد ($p<0.05$).

(گروه کنترل مثبت) بطور معنی داری کاهش یافته است. از سویی، میزان بیان ژن‌های VEGF α /ARC/CREB در گروه موش‌های سرطانی که با داروی پاکلیتاسکسل جهت شیمی درمانی دریافت کرده‌اند (گروه پاکلیتاسکسل) به طور معنی داری نسبت به گروه سرطان پستان (گروه کنترل مثبت) کاهش یافته است ($p<0.05$ ، شکل ۲ الف-ج). در این تحقیق مشخص شده که گروه موش‌های القا شده به سرطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاسکسل و مکمل ترکیبات زیست فعال کامپفروول و گاواز گالیک اسید (مکمل+پاکلیتاسکسل) مصرف کرده‌اند و گروه موش‌های القا شده به سرطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاسکسل و تمرین استقاماتی (گروه تمرین+پاکلیتاسکسل) انجام داده‌اند بطور معنی داری نسبت به موش‌های القا شده به سرطان پستان افزایش یافته است ($p<0.05$ ، شکل ۲ الف-ج). به علاوه، انجام همزمان تمرین استقاماتی و مصرف مکمل ترکیبات زیست فعال (تمرین+مکمل+پاکلیتاسکسل) سبب افزایش میزان بیان ژن‌های VEGF α /ARC/CREB نسبت به سایر گروه‌ها شده است ($p<0.05$ ، شکل ۲ الف-ج).

بین این دو لیست ژنی شامل ۱۰۴۹ ژن است که با استفاده از ابزار بیوانفورماتیکی VENNY بدست آمد. شبکه تعاملات ژنتیکی ۱۰۴۹ ژن مشترک با سطح اطمینان متوسط ($score>0.4$) براساس مستندات در پایگاه STRING طراحی شد و آنالیز پارامترهای شبکه (درجه: ۳۰، مرکزیت بینابینی: ۰/۰۵) در نرم‌افزار CytoScape ۵۸ ژن را در شبکه تعاملات ژنتیکی در محور سرطان پستان-شناخت به عنوان ژن‌های اصلی درگیر در این مسیر مشخص کرد. در این شبکه تعاملات ژنتیکی درجه تأثیر ژن‌ها در شبکه تجسم شده بر اساس پارامتر درجه^۱ نشان داده شده است. هرچه درجه ژن در شبکه بالاتر باشد، اندازه گره^۲ بزرگ‌تر می‌باشد. از طرفی، میزان ارتباط ژن‌ها در این شبکه ژنتیکی براساس الگوریتم‌های بیوانفورماتیکی و غنی‌سازی داده‌ها به صورت خطوط نمایش داده شده است. در این بین، ژن‌های CREB1، HIF1 α , VEGF α , ARC در نئوپلاسم بافت پستان، سرطان پستان ارشی، بیماری‌زایی آلزایمر و پارکینسون شناسایی کرد.

• تأثیر تمرین استقاماتی و مصرف ترکیبات زیست

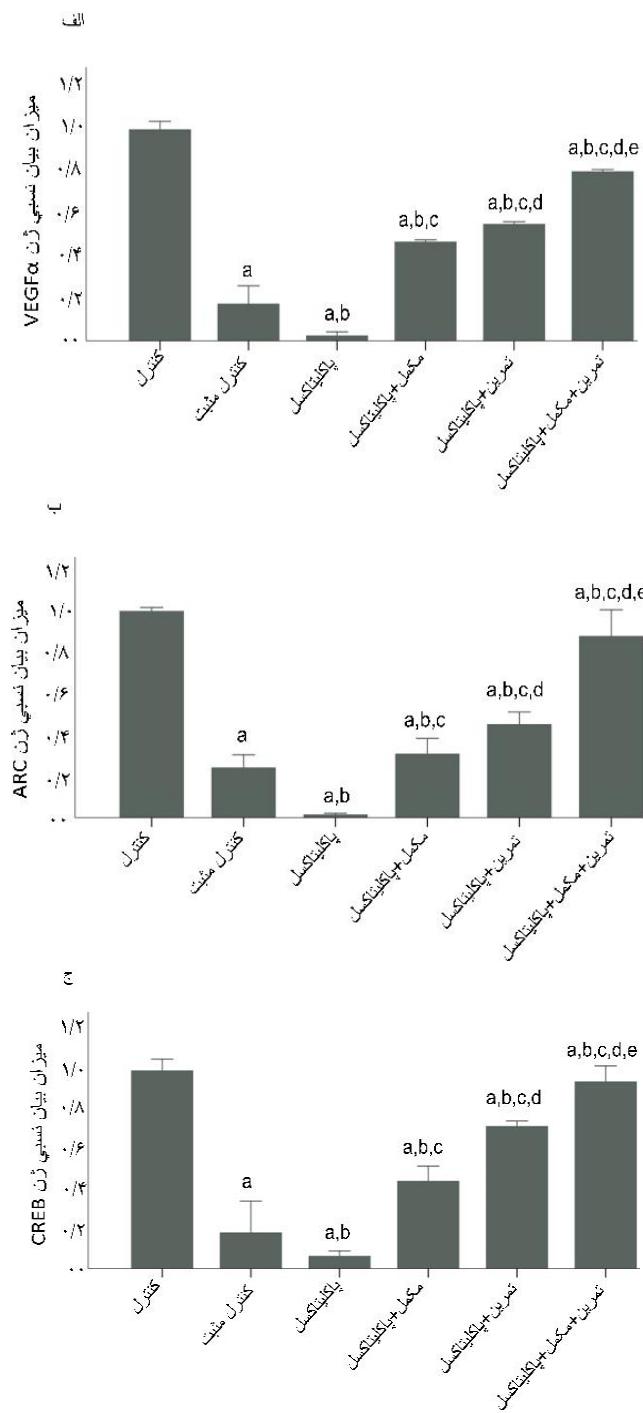
فعال گالیک اسید و کامپفروول بر اندازه تومور
اندازه تومور در اثر مصرف ترکیبات زیست فعلی ترکیبات زیست فعلی گالیک اسید و کامپفروول و انجام تمرین استقاماتی به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش یافته است ($p<0.05$ ، شکل ۱). اثر همزمان تمرین استقاماتی و مصرف ترکیبات زیست فعلی ترکیبات زیست فعلی گالیک اسید و کامپفروول به طور معنی داری اندازه تومورها را نسبت به سایر گروه‌ها کاهش داده است ($p<0.05$ ، شکل ۱).

• تأثیر تمرین استقاماتی و مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفروول بر بیان ژن‌های VEGF α /ARC/CREB

در این مطالعه مشخص شد که بیان VEGF α /ARC/CREB در گروه مبتلا به سرطان پستان

¹ Degree

² Node



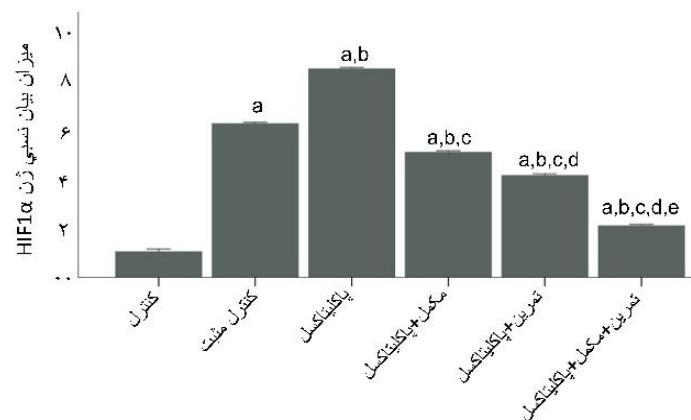
شکل ۲: تأثیر مصرف مکمل کامپفروم، گالیک اسید و تمرین استقاماتی بر بیان ژن‌های **VEGFA/ARC/CREB** در بافت هیپوکامپ مغز موش‌های مبتلا به سرطان پستان. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. (الف) تأثیر مصرف مکمل کامپفروم، گالیک اسید و تمرین استقاماتی بر تغییرات بیان ژن **VEGFA**. (ب) تأثیر مصرف مکمل کامپفروم، گالیک اسید و تمرین استقاماتی بر تغییرات بیان ژن **ARC**. (ج) تأثیر مصرف مکمل کامپفروم، گالیک اسید و تمرین استقاماتی بر تغییرات بیان ژن **CREB**. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. ژن **GAPDH** به عنوان ژن خانه گرдан در این پژوهش استفاده شد. آنالیز بیان ژن‌ها با استفاده از روش $\Delta\Delta CT$ محاسبه و ارزیابی گردید.

a نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل می‌باشد ($p<0.05$). b نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه پاکلیتاسکسل ($p<0.05$). c نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی شده (گروه پاکلیتاسکسل) می‌باشد ($p<0.05$). d نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی+مکمل ترکیبات زیست فعال (گروه مکمل+پاکلیتاسکسل) می‌باشد ($p<0.05$). e نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی+تمرين استقاماتی (گروه تمرین+پاکلیتاسکسل) می‌باشد ($p<0.05$).

در اثر مصرف ترکیبات زیست فعال گالیک اسید و کامپفروول و انجام تمرینات استقامتی به طور معنی‌داری نسبت به موش‌های القا شده به سلطان پستان و گروه پاکلیتاکسل کاهش یافته است ($p < 0.05$, شکل ۳). از سویی، در این تحقیق مشخص شده که مصرف هم‌مان مکمل‌های گالیک اسید و کامپفروول همراه با انجام تمرینات استقامتی سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن HIF1α نسبت به سایر گروه‌ها شده است ($p < 0.05$, شکل ۳).

تأثیر تمرین استقامتی و مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفروول بر میزان بیان ژن HIF1α

مشخص شد که بیان ژن HIF1α در گروه مبتلا به سلطان پستان (گروه کنترل مثبت) نسبت به گروه سالم بدون هیچ مداخله‌ای (گروه کنترل) به طور معنی‌داری افزایش یافته است ($p < 0.05$, شکل ۳). از سویی، در گروه موش‌های سلطانی که داروی پاکلیتاکسل جهت شیمی درمانی دریافت کرده‌اند (گروه پاکلیتاکسل) میزان بیان ژن HIF1α به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت HIF1α افزایش یافته است ($p < 0.05$, شکل ۳). بیان ژن HIF1α نسبت به سایر گروه‌ها شده است ($p < 0.05$, شکل ۳).



شکل ۳: تأثیر مصرف مکمل کامپفروول، گالیک اسید و تمرین استقامتی بر بیان ژن HIF1α در بافت هیپوکامپ مغز موش‌های مبتلا به سلطان پستان

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. ژن GAPDH به عنوان ژن خانه گردان در این پژوهش استفاده شد. آنالیز بیان ژن‌ها با استفاده از روش $\Delta\Delta^{CT}$ محاسبه و ارزیابی گردید. a نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل می‌باشد ($p < 0.05$). b نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل مثبت می‌باشد ($p < 0.05$). c نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سلطان شیمی درمانی شده (گروه پاکلیتاکسل) می‌باشد ($p < 0.05$). d نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سلطان شیمی درمانی +مکمل ترکیبات زیست فعال (گروه مکمل+پاکلیتاکسل) می‌باشد ($p < 0.05$). e نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سلطان شیمی درمانی +تمرین استقامتی (گروه تمرین+پاکلیتاکسل) می‌باشد ($p < 0.05$).

هیپوکامپ، با بیان بالای RIP3 در مقایسه با گروه کنترل شد (۳۸). افزایش بیان iNOS و عوامل التهابی مانند TNF- α و IL- β در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد که قطبیت M1 میکروگلیا در فرآیند شناختی نقش دارد (۳۸). نشانگرهای زیستی کاهش شناخت ناشی از شیمی درمانی سلطان و/یا عوامل خطر مانند وضعیت التهابی یا عوامل ژنتیکی مستعد کننده اخیراً مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه میزان تأثیر تمرین ورزشی استقامتی مورد ارزیابی قرار گرفته است. در نتیجه، مصرف پاکلیتاکسل می‌تواند دارای عوارض جانبی بر روی نورون زایی و عملکرد سلول‌های عصبی داشته باشد.

بحث

در این مطالعه مشخص شده که شیمی درمانی با داروی پاکلیتاکسل سبب کاهش معنی‌دار بیان HIF1α و افزایش معنی‌دار ژن VEGF α /ARC/CREB نسبت به گروه کنترل مثبت شده است. مطالعات نشان داده‌اند داروی شیمی درمانی پاکلیتاکسل (۱۰ mg/kg) باعث اختلال شناختی قابل توجهی، همراه با تغییراتی در شکل پذیری سیناپسی، از جمله کاهش تراکم BDNF و خارهای دندریتیک^۱ می‌گردد. تانگ و همکاران نشان دادند پاکلیتاکسل باعث نکروپتوز در نورون‌های

¹ Dendritic spines

HIF1 α دارد. در این مطالعه مشخص گردید که بیان ژن HIF1 α در گروه موش‌های سرطانی که با داروی پاکلیتاسکسل جهت شیمی درمانی دریافت کرده‌اند (گروه پاکلیتاسکسل) میزان بیان ژن HIF1 α به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش یافته است. از سویی، بیان ژن HIF1 α در اثر مصرف ترکیبات زیست فعال گالیک اسید و کامپفرون و انجام تمرينات استقامتی به‌طور معنی‌داری نسبت به موش‌های القا شده به سرطان پستان و گروه پاکلیتاسکسل کاهش یافته است. در این تحقیق مشخص شده که مصرف همزمان مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرون همراه با انجام تمرينات استقامتی سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن HIF1 α نسبت به سایر گروه‌ها شده است.

میزان بیان ژن‌های VEGF α /ARC/CREB در اثر مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرون در موش‌های شیمی درمانی شده بوسیله پاکلیتاسکسل در موش‌های مبتلا به سرطان پستان به‌طور معنی‌داری افزایش و میزان بیان ژن HIF1 α کاهش یافته است. در نتیجه، شیمی درمانی توسط داروی پاکلیتاسکسل سبب کاهش نورون‌زاویی می‌گردد و می‌توان با کمک انجام تمرينات استقامتی و مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرون میزان اختلال در نورون‌زاویی توسط مصرف داروی پاکلیتاسکسل کاهش یابد. کامپفرون از طریق کاهش مسیرهای PI3K/AKT در سلول‌های سرطان دهانه رحم انسان، آپوپتوز سلولی و پیری را القا می‌کند (۴۴). در سرطان پستان، کامپفرون از طریق توقف چرخه سلولی آپوپتوز را القا می‌کند و رشد سلولی ناشی از استروژن و تریکلوزان را سرکوب می‌کند (۴۵). کامپفرون از طریق مسدود کردن آبشار PKC δ /MAPK/AP1 ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP)-۹، تهاجم سلول‌های سرطان پستان را مهار می‌کند (۴۶). کامپفرون همچنین می‌تواند انتقال اپیتلیال-مزانشیمی (EMT) ناشی از تریکلوزان و رفتارهای مرتبط با متاستاتیک را در سلول‌های سرطان پستان MCF7 سرکوب کند. اگرچه نقش ضدسرطانی کامپفرون در انواع مختلف تومورها با موفقیت به اثبات رسیده است، اثر کامپفرون بر TNBC هنوز به خوبی تعریف نشده است. شوشان لی و همکاران برای اولین بار نشان داد که دوز کم کامپفرون با کاهش فعالیت Rho، مهاجرت سلول‌های TNBC را سرکوب می‌کند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که کامپفرون یک

مشخص شده است که میزان بیان ژن‌های VEGF α /ARC/CREB در اثر انجام تمرينات استقامتی افزایش و میزان بیان ژن HIF1 α کاهش یافته است. چند مطالعه نشان داده‌اند که برنامه‌های ورزشی می‌تواند اختلالات شناختی را بهبود بخشد (۳۹) اما اکثر آن‌ها براساس خودگزارشی بیماران بوده و عملکرد شناختی عینی را ارزیابی نکرده‌اند (۴۰). یک مطالعه اخیر، شناخت را در بازماندگان سرطان پستان غیرفعال که به‌طور تصادفی در یک برنامه ورزشی ۱۲ هفته‌ای در مقایسه با گروه کنترل انتخاب شده بودند، ارزیابی کرده است. گروه تمرين در افرادی که در ۲ سال گذشته تشخیص داده شده بودند، بهبودی در سرعت پردازش و کاهش علائم شناختی داشتند (۳۹). در مدل‌های موشی، نشان داده شده است که تمرينات ورزشی، میزان نوروژنز در ناحیه هیپوکامپ مغز موش‌های مبتلا به سرطان پستان شیمی درمانی شده را افزایش می‌دهد (۴۱). بر اساس نتایج بدست آمد، انجام تمرينات هوازی می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در مسیر نورون‌زاویی را افزایش دهد.

رویکردهای مهار سیگنال‌دهی HIF1 α در درجه اول بر کاهش سطح پروتئین HIF1 α ، با القای تخریب یا مهار رونویسی آن، مهار رونویسی با واسطه HIF1 α ، یا ایجاد HIF1 α اختلال در تشکیل مجموعه فاکتور رونویسی متمرکز شده است (۱۴). تا به امروز، چندین عامل پیش بالینی و بالینی شناسایی شده‌اند که به‌طور موثری از طریق مکانیسم‌های مختلف فعالیت HIF1 α را مهار می‌کنند، که احتمالاً بخشی از اثر ضدتوموری آنها را تشکیل می‌دهند (۱۴). فعال شدن مسیر HIF1 α می‌تواند سبب فعال شدن BDNF و VEGF α و درنتیجه سبب نوروژنز در مغز می‌شود (۱۵). لی و همکاران نشان دادند که مسیر HIF1 α یک هدف بالقوه جهت بهبود نوروژنز می‌باشد. فعال‌سازی مسیر HIF1 α منجر به بیان پایدار ژن EPO و فاکتور نوروتروفیک BDNF می‌شود (۴۲). علاوه بر این، گزارش شده است که EPO، سبب تحریک BDNF و باعث بیان ژن‌های نوروتروفیک مانند HIF1 α می‌شود (۴۲). دیاما و همکاران دریافتند که اثرات نوروژنز و نوروتروفیک BDNF نیاز به سیگنالینگ VEGF α دارد و یک تعامل متقابل بین این دو مولکول وجود دارد (۴۳). این یافته‌ها نشان می‌دهد که فعال‌سازی مسیر HIF1 α و افزایش BDNF نقش مهمی در میانجی‌گری اثرات نوروژنز

استقامتی میزان بیان ژن HIF1α به طور معنی داری کاهش یافته است. از محدودیت های این مطالعه می توان به عدم اندازه گیری میزان تغییرات پروتئین VEGF α /ARC/CREB و HIF1α اشاره نمود. همچنین، در این مطالعه انجام توموگرافی امکان پذیر نبوده است و از محدودیت های مطالعه محسوب می شود. از سویی، عدم سنجش میزان نورون زایی براساس مطالعات پت اسکن از دیگر محدودیت های مطالعه محسوب می گردد. پیشنهاد می شود در پژوهش های دیگر مصرف گالیک اسید و کامپفروول با تمرینات هوایی با دوز های متفاوت بررسی شود. از سویی، نیاز به بررسی میزان تغییرات فیزیولوژیکی حاصل از دیگر پرتوکل های ورزشی باشد و مدت متفاوت مناسب در مطالعات آینده پیشنهاد می شود.

تعارض منافع

در ارتباط با یافته های پژوهش یا مطالعه ذکر شده در مقاله، نویسندها مقاله دارای تعارض منافع نمی باشند.

References

1. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. CA: a cancer journal for clinicians. 2023;73(1):17-48.
2. Hajibabaie F, Abedpoor N, Assareh N, Tabatabaiifar MA, Shariati L, Zarrabi A. The importance of SNPs at miRNA binding sites as biomarkers of gastric and colorectal cancers: a systematic review. Journal of Personalized Medicine. 2022;12(3):456.
3. Jia M, Zhang X, Wei L, Gao J. Measurement, outcomes and interventions of cognitive function after breast cancer treatment: A narrative review. Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology. 2021;17(4):321-9.
4. Joly F, Castel H, Tron L, Lange M, Vardy J. Potential effect of immunotherapy agents on cognitive function in cancer patients. JNCI: Journal of the National Cancer Institute. 2020;112(2):123-7.
5. Lange M, Joly F, Vardy J, Ahles T, Dubois M, Tron L, et al. Cancer-related cognitive impairment: an update on state of the art, detection, and management strategies in

TNBC داروی شیمی درمانی بالقوه برای تأخیر در متاستاز است (۳۲). سونگ و همکاران همچنین دریافتند که تزریق داخل صفاقی روزانه ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم کامپفروول به صورت روزانه به مدت ۳ هفته، می تواند از رشد تومور زنگرفت معده جلوگیری کند (۴۷). گالیک اسید یک ترکیب پلی فنول با فعالیت های بیولوژیکی مختلف مانند آنتی اکسیدان، ضد التهاب، ضد تومور، ضد ویروسی و ضد باکتری است (۲۷). در همان زمان، تعداد فرازینهای از مطالعات گزارش کردند که مهار تکثیر سلول های تومور و القای آپوپتوز، کلید داروهای ضد تومور فعال هستند، و رادیوتراپی و شیمی درمانی ارتباط نزدیکی با القای آپوپتوز دارند (۴۸). براساس مطالعات انجام شده و نتایج این تحقیق، مصرف ترکیبات زیست فعال مانند مکمل های گالیک اسید و کامپفروول می تواند علاوه بر خاصیت ضد اکسیداتیوی و ضد التهابی، بر روی نورون زایی و عملکرد سلول های عصبی تأثیر مثبت داشته باشد.

به طور کلی، شیمی درمانی اگرچه باعث کاهش سایز تومور و محدودیت گسترش سرطان می شود، اما با این وجود دارای عوارض جانبی است. مشخص شده است که مصرف پاکلیتاکسل اثرات منفی بر عملکرد سلول های عصبی و کاهش نورون زایی در بافت مغز می گردد. در نتیجه استفاده از ترکیبات زیست فعال مانند مصرف مکمل های گالیک اسید و کامپفروول می تواند اثرات منفی مصرف داروی پاکلیتاکسل را کاهش دهد. از سویی، در این مطالعه مشخص شده که انجام تمرینات هوایی میزان نورون زایی در بافت مغز موش های مبتلا به سرطان پستان را افزایش دهد. شایان ذکر است، بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه تأثیر همزمان انجام تمرینات هوایی همراه با مانند مصرف مکمل های گالیک اسید و کامپفروول به طور معنی داری سبب افزایش میزان نورون زایی در بافت مغز و اندازه تومورها شده است.

نتیجه گیری

در این مطالعه مشخص شد مصرف مکمل های گالیک اسید و کامپفروول و انجام تمرینات استقامتی در موش های شیمی درمانی شده بوسیله پاکلیتاکسل در موش های مبتلا به سرطان پستان سبب افزایش میزان بیان ژن های VEGF α /ARC/CREB شده است. از سویی، در اثر مصرف مکمل های گالیک اسید و کامپفروول و انجام تمرین

- Patients With Recurrent or Refractory Solid Tumors. *Clinical Pharmacology in Drug Development.* 2021;10(2):115-30.
14. Assidicky R, Tokat UM, Tarman IO, Saatci O, Ersan PG, Raza U, et al. Targeting HIF1-alpha/miR-326/ITGA5 axis potentiates chemotherapy response in triple-negative breast cancer. *Breast cancer research and treatment.* 2022;193(2):331-48.
15. Li G, Zhao M, Cheng X, Zhao T, Feng Z, Zhao Y, et al. FG-4592 improves depressive-like behaviors through HIF-1-mediated neurogenesis and synapse plasticity in rats. *Neurotherapeutics.* 2020;17:664-75.
16. Leung H-W, Foo G, VanDongen A. Arc regulates transcription of genes for plasticity, excitability and Alzheimer's disease. *Biomedicines.* 2022;10(8):1946.
17. Pastuzyn ED, Day CE, Kearns RB, Kyrke-Smith M, Taibi AV, McCormick J, et al. The neuronal gene arc encodes a repurposed retrotransposon gag protein that mediates intercellular RNA transfer. *Cell.* 2018;172(1):275-88. e18.
18. Ortega-Martínez S. A new perspective on the role of the CREB family of transcription factors in memory consolidation via adult hippocampal neurogenesis. *Frontiers in molecular neuroscience.* 2015;8:46.
19. Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, Kothadia SM, Keir ST, Freedland SJ, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. *Journal of applied physiology.* 2010;108(2):343-8.
20. Rock CL, Thomson C, Gansler T, Gapstur SM, McCullough ML, Patel AV, et al. American Cancer Society guideline for diet and physical activity for cancer prevention. *CA: a cancer journal for clinicians.* 2020;70(4):245-71.
21. Abedpoor N, Taghian F, Hajibabaie F. Cross brain-gut analysis highlighted hub genes and LncRNA networks differentially modified during leucine consumption and endurance exercise in mice with cancer survivors. *Annals of Oncology.* 2019;30(12):1925-40.
6. Winocur G, Johnston I, Castel H. Chemotherapy and cognition: International cognition and cancer task force recommendations for harmonising preclinical research. *Cancer treatment reviews.* 2018;69:72-83.
7. Pakravan G, Peymani M, Abedpoor N, Safaeinejad Z, Yadegari M, Derakhshan M, et al. Antiapoptotic and anti-inflammatory effects of Ppary agonist, pioglitazone, reversed Dox-induced cardiotoxicity through mediating of miR-130a downregulation in C57BL/6 mice. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology.* 2022;36(6):e23041.
8. Donovan F, Sands K, Judith N, Marianne M, Green C. Phipps medical surgical nursing health and illness perspective 8 th ed. St Louis: Lippincott Williams & Wilkins. 2007.
9. Baghbeheshti S, Baniasadi S. Comparing adverse effects of docetaxel-doxorubicin and paclitaxel-doxorubicin regimens in breast cancer patients. *Koomesh.* 2019;21(3):449-55.
10. Pavlidis N. Cancer and pregnancy: what should we know about the management with systemic treatment of pregnant women with cancer? *European Journal of Cancer.* 2011;47:S348-S52.
11. Xiong C, Chua KC, Stage TB, Priotti J, Kim J, Altman-Merino A, et al. Human induced pluripotent stem cell derived sensory neurons are sensitive to the neurotoxic effects of paclitaxel. *Clinical and translational science.* 2021;14(2):568-81.
12. Naaz F, Haider MR, Shafi S, Yar MS. Anti-tubulin agents of natural origin: Targeting taxol, vinca, and colchicine binding domains. *European journal of medicinal chemistry.* 2019;171:310-31.
13. Li Y, Kassir N, Chen N, Wang X, Palmisano M, Zhou S. Population Pharmacokinetics and Exposure-Response Analysis of nab-Paclitaxel in Pediatric

- 29.M Calderon-Montano J, Burgos-Morón E, Pérez-Guerrero C, López-Lázaro M. A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini reviews in medicinal chemistry.* 2011;11(4):298-344.
- 30.Kashafi E, Moradzadeh M, Mohamadkhani A, Erfanian S. Kaempferol increases apoptosis in human cervical cancer HeLa cells via PI3K/AKT and telomerase pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2017;89:573-7.
- 31.Kuo W-T, Tsai Y-C, Wu H-C, Ho Y-J, Chen Y-S, Yao C-H, et al. Radiosensitization of non-small cell lung cancer by kaempferol. *Oncology Reports.* 2015;34(5):2351-6.
- 32.Li S, Yan T, Deng R, Jiang X, Xiong H, Wang Y, et al. Low dose of kaempferol suppresses the migration and invasion of triple-negative breast cancer cells by downregulating the activities of RhoA and Rac1. *OncoTargets and therapy.* 2017;4809-19.
- 33.Atiya HI, Dvorkin-Gheva A, Hassell J, Patel S, Parker RL, Hartstone-Rose A, et al. Intraductal adaptation of the 4T1 mouse model of breast cancer reveals effects of the epithelial microenvironment on tumor progression and metastasis. *Anticancer research.* 2019;39(5):2277-87.
- 34.Rodallec A, Vaghi C, Ciccolini J, Fanciullino R, Benzekry S. Tumor growth monitoring in breast cancer xenografts: A good technique for a strong ethic. *Plos one.* 2022;17(9):e0274886.
- 35.Sólomo AM, Santacruz MS, Vanzulli S, Coggiola O, de Kier Joffé EB, Finkelsztein L, et al. Anti-metastatic action of an N4-aryl substituted thiosemicarbazone on advanced triple negative breast cancer. *Heliyon.* 2020;6(10):e05161.
- 36.Vulczak A, Souza AdO, Ferrari GD, Azzolini AECS, Pereira-da-Silva G, Alberici LC. Moderate exercise modulates tumor metabolism of triple-negative breast cancer. *Cells.* 2020;9(3):628.
- 37.Wang T, Wu Q, Zhao T. Preventive effects of kaempferol on high-fat diet-induced depression-like behaviors. *Molecular Neurobiology.* 2022;59(7):4106-23.
- 22.Entezar M. Overview of the National Cancer Control Program Breast of Islamic Republic of Iran (Levels 1 and 2 prevention). Irvine Publishing Company. 2012;1:46-70.
- 23.Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux T, McClellan J, Steiner J, Carmichael M, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine.* 2011;55(2):274-9.
- 24.Hajibabaie F, Abedpoor N, Taghian F, Safavi K. A Cocktail of Polyherbal Bioactive Compounds and Regular Mobility Training as Senolytic Approaches in Age-dependent Alzheimer's: the In Silico Analysis, Lifestyle Intervention in Old Age. *Journal of Molecular Neuroscience.* 2023;1-14.
- 25.Abedpoor N, Taghian F, Hajibabaie F. Physical activity ameliorates the function of organs via adipose tissue in metabolic diseases. *Acta histochemica.* 2022;124(2):151844.
- 26.Hajibabaie F, Abedpoor N, Safavi K, Taghian F. Natural remedies medicine derived from flaxseed (secoisolariciresinol diglucoiside, lignans, and α-linolenic acid) improve network targeting efficiency of diabetic heart conditions based on computational chemistry techniques and pharmacophore modeling. *Journal of Food Biochemistry.* 2022;e14480.
- 27.Bai J, Zhang Y, Tang C, Hou Y, Ai X, Chen X, et al. Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy.* 2021;133:110985.
- 28.Farbood Y, Sarkaki A, Hashemi S, Mansouri MT, Dianat M. The effects of gallic acid on pain and memory following transient global ischemia/reperfusion in Wistar rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine.* 2013;3(4):329.

- xenograft breast cancer models. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2016;28:70-82.
46. Li C, Zhao Y, Yang D, Yu Y, Guo H, Zhao Z, et al. Inhibitory effects of kaempferol on the invasion of human breast carcinoma cells by downregulating the expression and activity of matrix metalloproteinase-9. *Biochemistry and Cell Biology*. 2015;93(1):16-27.
47. Song H, Bao J, Wei Y, Chen Y, Mao X, Li J, et al. Kaempferol inhibits gastric cancer tumor growth: An in vitro and in vivo study. *Oncology reports*. 2015;33(2):868-74.
48. Jan R. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2019;9(2):205.
- obesity complications in C57BL/6 mice. *BioMed research international*. 2020;2020.
38. Tang M, Zhao S, Liu J-X, Liu X, Guo Y-X, Wang G-Y, et al. Paclitaxel induces cognitive impairment via necroptosis, decreased synaptic plasticity and M1 polarisation of microglia. *Pharmaceutical Biology*. 2022;60(1):1556-65.
39. Hartman SJ, Nelson SH, Myers E, Natarajan L, Sears DD, Palmer BW, et al. Randomized controlled trial of increasing physical activity on objectively measured and self-reported cognitive functioning among breast cancer survivors: The memory & motion study. *Cancer*. 2018;124(1):192-202.
40. Bedillion MF, Ansell EB, Thomas GA. Cancer treatment effects on cognition and depression: The moderating role of physical activity. *The Breast*. 2019;44:73-80.
41. Winocur G, Wojtowicz JM, Huang J, Tannock IF. Physical exercise prevents suppression of hippocampal neurogenesis and reduces cognitive impairment in chemotherapy-treated rats. *Psychopharmacology*. 2014;231:2311-20.
42. Kushwah N, Jain V, Deep S, Prasad D, Singh SB, Khan N. Neuroprotective role of intermittent hypobaric hypoxia in unpredictable chronic mild stress induced depression in rats. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149309.
43. Deyama S, Bang E, Wohleb ES, Li X-Y, Kato T, Gerhard DM, et al. Role of neuronal VEGF signaling in the prefrontal cortex in the rapid antidepressant effects of ketamine. *American Journal of Psychiatry*. 2019;176(5):388-400.
44. Yoshida T, Konishi M, Horinaka M, Yasuda T, Goda AE, Taniguchi H, et al. Kaempferol sensitizes colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2008;375(1):129-33.
45. Kim S-H, Hwang K-A, Choi K-C. Treatment with kaempferol suppresses breast cancer cell growth caused by estrogen and triclosan in cellular and