Iranian Journal of Breast Diseases. 2020;13(3):52-61.

Original Article

Synergistic Effect of Endurance Training Combined with Curcumin on Intratumoral Expression of Interleukin-4 (*Il4*) and *Stat-6* in Female Mice with Breast Cancer

Delfan M[1], Rasekh Nejad Z[1], Delphan M[2*]

[1] Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
[2] Young Researchers and Elite Club, Sciences and Researches Branch (Oloom Tahghighat Branch), Islamic Azad University, Tehran, Iran

Receive: 8/4/2020
Accepted: 22/8/220

[*]**Corresponding Author:**
Sport.Mahmoud@gmail.com

Ethics Approval:
IR.SSRI.REC.1398.620

Abstract

Introduction: The *Il4*/*Stat-6* signaling axis is one of the most important pathways involved in the growth and development of breast cancer. Hence, the aim of the present study was to investigate the synergistic effect of endurance training along with curcumin on the intratumoral expression of *Il4* and *Stat-6* in female BALB/c mice with breast cancer.

Methods: Forty BALB/c mice (4-5 weeks old) were randomly divided into four groups including exercise, curcumin, exercise-curcumin, and control. The 4T1 breast Tumors were transplanted subcutaneously in the right flank of all mice. Then, endurance training (5 days per week) was performed, and curcumin (6 times per week) was given by gavage for five weeks. The intratumoral expression of *Il4* and *Stat-6* were measured using the qRT-PCR method. One-way analysis of variance followed by LSD post hoc test, was used for the statistical analysis. P< 0.05 was considered statistically significant.

Results: A significant decline in tumor growth was observed in all intervention groups compared with the control group (P<0.05). Endurance training with curcumin resulted in a significant reduction in the intratumoral expression of *Il4* and *Stat-6* in comparison with the control group (P=0.001 for both genes). Significant reductions in the expression of *Il4* (P=0.019) and *Stat-6* (P=0.001) were also observed in the endurance exercise group. Curcumin only reduced *Stat-6* gene expression compared with the control group (P=0. 001).

Conclusion: Five weeks of endurance training with curcumin seems to be more effective in treatment of cancer compared with either of these non-pharmacological strategies alone.

Keywords: Endurance Exercise, Curcumin, Breast Cancer, *Il4*, *Stat-6*

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]

فصلنامه بیماری های پستان ایران
۶۱-۵۳ :(۳)۱۳ ؛۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

اثر هم‌افزایی تمرین استقامتی و مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های اینتراتوموری اینترلوکین-۴ (Il4) و *Stat-6* در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان

مریم دلفان[۱]، زهرا راسخ نژاد[۱]، محمود دلفان[۲*]

[۱] گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران
[۲] باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ ارسال: ۹۹/۱/۲۰
تاریخ پذیرش: ۹۹/۶/۱

* نویسنده مسئول:
Sport.Mahmoud@gmail.com

چکیده

مقدمه: محور پیام‌دهی *Il4/Stat-6* یکی از مهم‌ترین مسیرهای مهم درگیر در رشد و توسعه سرطان پستان می‌باشد. از این‌رو، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر هم‌افزایی تمرین استقامتی همراه با مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های اینتراتوموری *Il4* و *Stat-6* در موش‌های ماده نژاد بالب سی مبتلا به سرطان پستان بود.

روش بررسی: ۴۰ سر موش بالب سی (۵-۴ هفته‌ایی) به صورت تصادفی به ۴ گروه شامل گروه تمرین، کورکومین، تمرین-کورکومین و شاهد تقسیم شدند. سرطان پستان از نوع 4T1 به پهلوی راست موش‌ها پیوند زده شد. سپس تمرین استقامتی (پنج روز در هفته) و گاواژ کورکومین (شش بار در هفته) به مدت پنج هفته بر روی گروه‌های مورد مداخله انجام گرفت. میزان بیان ژن‌های *Il4* و *Stat-6* به روش qRT-PCR اندازه‌گیری شد. از تحلیل واریانس یک سویه به همراه تست تعقیبی LSD جهت تجزیه تحلیل آماری استفاده شد. سطح معناداری آماری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: کاهش معنادار رشد سرطان در همه گروه‌های مداخله‌ایی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). تمرین استقامتی به همراه کورکومین منجر به کاهش معنادار بیان ژن‌های اینتراتوموری *Il4* و *Stat-6* در مقایسه با گروه شاهد شد ($P=۰/۰۰۱$). کاهش معنادار بیان ژن‌های *Il4* ($P=۰/۰۱۹$) و *Stat-6* ($P=۰/۰۰۱$) در گروه تمرین استقامتی مشاهده شد. کورکومین تنها باعث کاهش معنادار بیان ژن *Stat-6* نسبت به گروه شاهد شد ($P=۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد پنج هفته تمرین استقامتی به همراه مکمل کورکومین در مقایسه با هر یک از استراتژی های غیردارویی به تنهایی در درمان سرطان موثرتر باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، کورکومین، سرطان پستان، *Il4*، *Stat-6*

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]

مقدمه

سرطان پستان به عنوان شایع‌ترین نوع سرطان و دومین علت مرگ و میر زنان در سراسر جهان به شمار می‌رود. با توجه به شیوع زیاد و میزان مرگ و میر بالای این نوع بیماری، می‌توان آنرا یکی از مهم‌ترین و بحث برانگیزترین مشکلات سلامتی زنان در سراسر دنیا به‌شمار آورد (۱). در پاتولوژی سرطان، التهاب و سایتوکاین‌ها نقش بسیار مهمی در بروز، رشد و توسعه سلول‌های سرطانی ایفا می‌کنند (۲، ۳). از جمله آنها *Il4* است که در یکی از محورهای مهم دخیل در رشد و توسعه سرطان پستان شامل محور *Il4/Stat-6* درگیر می‌باشد. این مسیر پیام‌دهی با تاثیر بر سازوکارهای درون سلولی و کاهش آپوپتوز سلولی باعث افزایش رشد سلول‌های سرطان پستان و حتی افزایش متاستاز آنها می‌گردد (۴).

Il4 که بروی کروموزوم ۵*q* قرار دارد در سلول‌های اولیه سرطان پستان، پروستات و مثانه منجر به تنظیم مقادیر *c-FLIP* و *Bcl-xL* شده و به نوبه خود باعث ایجاد مقاومت در برابر آپوپتوز ناشی از داروهای شیمی درمانی می‌شود (۵). همچنین *Stat-6* که در ناحیه کروموزومی ۱۲*q*۱۳ قرار دارد، در پاسخ به تحریک *Il4* فعال می‌شود. فعال شدن این فاکتور نقش مهمی را در سلول‌های هدف ایفا می‌کند که از جمله آنها تغییر تمایز و رشد سلول و همچنین ایجاد مقاومت در برابر آپوپتوز است (۴).

از طرفی، نشان داده شده است که فعالیت‌های بدنی هوازی و سبک با تاثیر بر التهاب باعث کنترل بیماری‌ها از جمله سرطان می‌گردد (۶). مطالعات مکانیزم‌نگر نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی می‌تواند با تعدیل سایتوکاین‌های التهابی اثر ضدالتهابی داشته باشد (۷). در این راستا نشان داده شده است ۶ هفته تمرین استقامتی باعث کاهش التهاب از طریق کاهش سطوح Il6 و کاهش بیان ژن‌های *Stat3* و *miR-155* در بافت سرطان پستان شده است، که متعاقب آن تکثیر سلولی، تغییر شکل سلولی، متاستاز و حجم سرطان پستان کاهش یافته است (۸). همچنین نتایج یک تحقیق نشان داد ۸ هفته تمرین استقامتی پیوسته میزان تولید *Il4* را در گروه ورزشی نسبت به گروه شاهد به شکل معناداری کاهش می‌دهد (۹). از سوی دیگر، مدارک علمی نشان می‌دهد که کورکومین از طریق مسیرهای پیام‌دهی مختلف از جمله مسیر تکثیر سلولی (*cyclin D1, c-myc*)، مسیر بقای سلول (*Bcl-2, Bcl-xL, c-FLIP, XIAP, cIAP1*)، مسیر فعال‌سازی کاسپاز (کاسپاز۸، ۳، ۹)، مسیر سرکوبگر تومور (*P21, P53*)، مسیر رسپتورهای مرگ (*DR4, DR5*) و بسیاری از مسیرهای سیگنالیک سلولی که شامل پروتئین کینازهایی از جمله *JNK, Akt* و *AMPK* می‌باشد، رشد سلول‌های توموری را مهار می‌کند (۱۰). علاوه بر این، مصرف هم‌زمان کورکومین با داروهای شیمی‌درمانی باعث بهبود اثربخشی درمان سرطان شده و عوارض ناشی از شیمی‌درمانی یا رادیوتراپی را کاهش می‌دهد (۱۱).

از این‌رو، با توجه به شواهد علمی مذکور در رابطه با اثرات ضد التهابی کورکومین و ورزش استقامتی، این مداخله‌ها می‌توانند به‌عنوان یک عامل کاهنده در ابتلا به سرطان پستان، کاهش روند رشد این بیماری و کاهش تاثیرات جانبی ناشی از روش‌های درمانی آن در نظر گرفته شوند. علی‌رغم اینکه اهمیت اثربخشی مطلوب کورکومین در بهبود بیماری سرطان گزارش شده است (۱۱، ۱۲) و همچنین اهمیت تاثیر ورزش در بهبود بیماری سرطان (۱۳، ۱۴) و کاهش عوارض جانبی شیمی‌درمانی و پرتودرمانی در روند پیشگیری و درمان سرطان مشخص شده است (۱۳)، هنوز هم فهم مکانیزمی تاثیرات مداخله‌های تحقیق حاضر و اثرات هم‌افزا و فزآینده آنها در ترکیب با هم بر سازوکارهای درون توموری در هاله‌ایی از ابهام قرار دارد و تا ایجاد یک تصویر کلی از تاثیرات مکانیزمی و درون توموری مداخله‌های ورزشی در ترکیب با کورکومین و دیگر مکمل‌ها، انجام مطالعات بیشتر در این زمینه را بسیار ضروری و مهم جلوه داده است. بر این اساس و با توجه به مسائل مذکور، محققین پژوهش حاضر به دنبال پاسخ گویی به این سوالات بودند که آیا تمرین ورزشی هوازی، مکمل کورکومین و ترکیبی از هر دو مداخله تاثیری بر مسیر التهابی *Il4/Stat-6* در بافت سرطان پستان و رشد سلول‌های آن دارد؟ آیا ورزش اثر هم‌افزایی بر تاثیرات ضد سرطانی کورکومین دارد؟ از این‌رو، هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر یک دوره تمرین استقامتی هوازی به همراه مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های اینتراتوموری *Il4* و *Stat-6* در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان بود.

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی و بنیادی است که بر روی ۴۰ سر موش بالب سی (۵-۴ هفته، وزن ۱۴ تا ۱۶ گرم، تهیه شده از موسسه تحقیقات پاستور) انجام شد. موش‌ها در شرایط استاندارد حیوانات آزمایشگاهی (دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲) نگهداری شدند. همه موش‌ها به شکل آزادانه به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و همچنین آب دسترسی داشتند. اصول اخلاقی مطالعه، مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران و با دریافت کد اخلاق (IR.SSRI.REC.1398.620) از پژوهشگاه علوم ورزشی در طول دوره پژوهش توسط پژوهشگران رعایت گردید.

سرطان پستان مدل 4T1: سرطان پستان مدل 4T1، یک رده سلولی سرطان قابل پیوند است که در ابتدا توسط فرد میلر و همکارانش مجزا شده است (۱۵). این نوع سرطان در موش‌های نژاد BALB/c و همچنین در محیط کشت به خوبی رشد می‌کند. علت نام‌گذاری آن به 4T1 به این دلیل بود که این نوع سرطان یکی از چهار زیر مجموعه به دست آمده از تومور ۴۱۰/۴ بود که از سرطان پستان موش MMTV + BALB/c پروش یافته از مادر C3H (BALB/BfC3H) مشتق شده است. 4T1 دارای چندین ویژگی است که علی‌رغم خصوصیت تهاجمی‌اش، آن را به عنوان مدل حیوانی آزمایشگاهی مناسب برای سرطان پستان انسان تبدیل کرده است. اول اینکه، سلول‌های 4T1 به‌راحتی در غده پستانی پیوند می‌خورند به‌طوری که تومور اولیه در محل صحیح آناتومیکی رشد می‌کند. دوم، مانند سرطان پستان انسان، متاستاز 4T1 به صورت خودبخود از تومور اولیه ایجاد می‌شود. همچنین، گسترش سریع متاستازهای 4T1 به غدد لنفاوی و سایر اندام‌ها بسیار شبیه به سرطان پستان انسان است و نهایتا تومور اولیه این نوع سرطان به راحتی قابل جراحی است. از اینرو، تومور 4T1 نسبتاً آسان برای دستکاری در شرایط *in vitro* و *in vivo* است (۱۵).

القا سرطان به روش ایمپلنت توده سرطان: بدین منظور، موش‌های ماده اینبرد نژاد بالبسی با استفاده از تزریق کتامین و زایلازین بیهوش شده و سپس توده سرطان پستان از نوع 4T1 در ابعاد ۳ در ۴ میلی‌متر به صورت زیر پوستی و در ناحیه پهلوی راست موش‌ها ایمپلنت شد. پس از ایمپلنت محل جراحی با دستگاه بخیه فوری، بخیه شد و توده سرطان ایمپلنت شده با چسب بخیه فیکس شد.

اندازه‌گیری ابعاد و سنجش حجم توده سرطان پستان در طول مطالعه: سه روز پس از پیوند توده سرطانی و پس از اطمینان از وضعیت طبیعی موش‌ها و بهبود وضعیت زخم در محل پیوند، ابعاد توده سرطانی با استفاده از کولیس دیجیتال (Mitutoyo، ژاپن) در دو بعد طول [L] (بزرگ‌ترین بعد تومور) و عرض [W] (بعد دیگر ۹۰ درجه زاویه نسبت به طول) هفته‌ایی ۲ بار اندازه‌گیری شد. سپس برای سنجش حجم توده از فرمول [$V=1/2(L2 \times W)$] استفاده گردید (۱۶).

برنامه تمرین ورزشی: بعد از پیوند توده سرطانی، موش‌ها به شکل تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی شامل، گروه تمرین استقامتی (E)، گروه کورکومین (CC)، گروه تمرین-کورکومین (EC) و گروه شاهد (C) تقسیم شدند. پس از ارزیابی سرعت رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی[1] (۱۶)، موش‌های گروه E به مدت ۵ هفته پروتکل تمرین ورزشی استقامتی را انجام دادند، که در طول هر هفته ۵ روز به انجام این پروتکل اختصاص داده شد. هر جلسه تمرین استقامتی به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ۶۰-۶۵ درصد vVo2max روی تردمیل مخصوص جوندگان انجام گرفت. ۵ دقیقه گرم کردن (شدت ۴۰-۳۵ درصد vVo_2max) قبل از شروع پروتکل و ۵ دقیقه سردن کردن (شدت ۴۰-۳۵ درصد vVo2max) پس از پایان پروتکل در نظر گرفته شد. موش‌های گروه CC نیز در این مدت مورد گاواژ کورکومین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (Sigma ، آمریکا) قرار گرفتند (۱۷). موش‌های گروه EC نیز در این مدت تحت هر دو مداخله تمرین استقامتی و گاواژ کورکومین قرار گرفتند. در نهایت، موش‌های گروه C، در طول مطالعه تحت هیچ‌گونه مداخله‌ایی از جمله تمرین ورزشی و گاواژ کورکومین قرار نگرفتند. برای ایجاد شرایط کاملا یکسان و سازگاری با محیط، موش‌های گروه C و CC در هر جلسه به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه بر روی نوارگردان خاموش و

[1] velocity at maximal oxygen uptake

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]

بی‌حرکت قرار گرفتند. در طول مطالعه نیز، این گروه‌ها در معرض صدای تردمیل قرار داده شدند. علاوه بر این، در طول مطالعه بر روی موش‌های گروه *C* و گروه *E*، گاواژ آب انجام گرفت. این کار جهت یکسان‌سازی تمام گروه‌ها به استرس گاواژ انجام گرفت. جهت تعیین سرعت و شدت پروتکل از روشی که دلفان و همکارانش در سال ۲۰۱۷ در مطالعه خود به کار برده بودند، به صورت ۲ هفته یک‌بار استفاده گردید (۱۶).

استخراج توده سرطان: ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها بوسیله تزریق درون صفاقی کتامین 90] [mg/kg و زایلازین [10 mg/kg] بی‌هوش شدند. سپس بافت سرطان بلافاصله استخراج و در نیتروژن ۸۰- منجمد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه سلولی و مولکولی برای تجزیه و تحلیل بعدی منتقل شدند.

سنجش بیان ژن‌های Il4 و *Stat-6*: استخراج RNA به‌وسیله کیت miRNeasy Mini (Qiagen، آلمان) و طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت. نسبت جذبی ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر برای تمامی نمونه‌های استخراج شده بین ۱/۸ تا ۲ بود، سپس برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده از روش الکتروفورز و ژل آگارز ۱٪ استفاده شد. همچنین از DNase Treatment (Thermo *scientific*، آلمان) برای حصول اطمینان از عدم وجود *DNA* در نمونه‌ها و در مرحله پیش از سنتز *cDNA* استفاده گردید. در نهایت، qReal time PCR با استفاده از دستگاه (Rotrogene 6000, Corbet) انجام شد. برنامه real time برای بررسی میزان بیان *Stat-6* بر اساس سایبرگرین شرکت ampliqon (دانمارک) و شامل: یک چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به‌دنبال آن ۴۰ چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه انجام شد. برنامه qReal time PCR برای *Il4* بر اساس سایبرگرین شرکت Qiagen (آلمان) و شامل: یک چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ چرخه با ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه دیگر انجام شد. در پایان، نرم‌افزار موجود در سیستم منحنی استاندارد و تکثیر پرایمرها را تجزیه و تحلیل و همچنین رسم کرد. علاوه بر این رسم منحنی دمای ذوب[2] نیز توسط سیستم اطمینان از اختصاصی بودن محصول واکنش را برای پژوهشگران فراهم کرد. کنترل داخلی برای ژن *Stat-6* توسط ژن خانه‌داری GAPDH (پیشگام، ایران) و کنترل داخلی برای *Il4* با استفاده از *61* Snord (Qiagen، آلمان) انجام گرفت. در نهایت کمی‌سازی داده‌ها با استفاده از فرمول $2^{-(\Delta\Delta)}$ انجام شد.

روش‌های آماری: ابتدا آزمون کولموگروف اسمیرنوف (K-S) برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها در گروه‌های مورد مطالعه استفاده شد، همچنین همگن بودن واریانس‌ها با آزمون *Leven* سنجیده شد. پس از اثبات طبیعی بودن داده‌ها، جهت تعیین معنادار بودن اختلاف بین متغیرها در چهار گروه از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One Way Anova) و تعیین جایگاه معناداری به دلیل همگن بودن واریانس‌ها از آزمون تعقیبی LSD استفاده گردید. سطح معنی‌داری برای همه آزمون‌های آماری α=۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و ترسیم نمودارها با استفاده از *نرم‌افزار* Excel 2007 انجام شد.

یافته‌ها

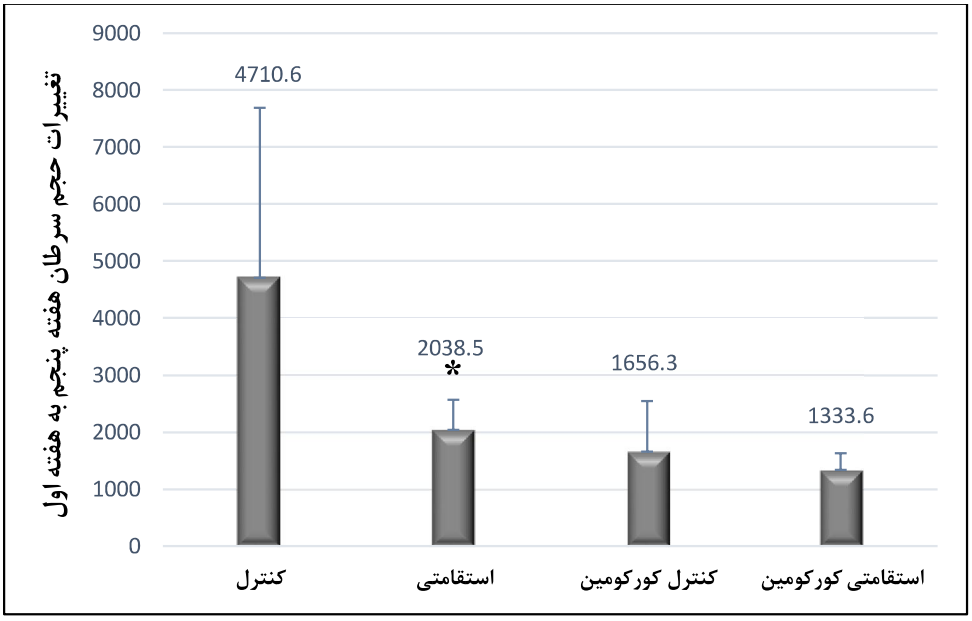
رشد توده سرطانی: همان‌طور که در نمودار شماره ۱ مشاهده می‌شود، یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که میانگین رشد توده سرطانی و تغییرات آن در هفته پنجم نسبت به هفته اول حاکی از کاهش معنادار آن در همه گروه‌های مداخله‌ایی نسبت به گروه شاهد بود (P=۰/۰۰۵). هرچند که این کاهش در گروه EC از همه بیشتر بود.

بیان ژن‌های Il4 و *Stat-6*: نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در بیان ژن *Il4* بین گروه‌ها بود (P =۰/۰۰۵). کاهش معنادار بیان ژن *Il4* در گروه‌های *EC* (P=۰/۰۰۱) و E (P=۰/۰۱۹) نسبت به گروه شاهد (C) مشاهده شد. هرچند بیشترین کاهش معنادار در گروه EC بود، اما مصرف کورکومین (CC) به تنهایی باعث کاهش معنادار در بیان ژن *Il4* نسبت به گروه شاهد نشد (P=۰/۱۰۷). همچنین در گروه *EC*

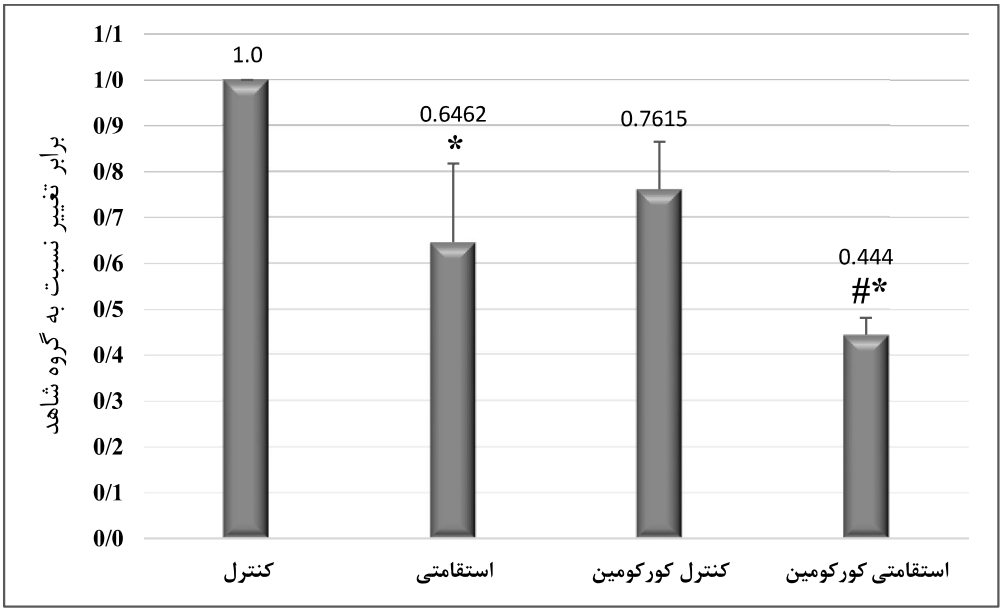
[2] Melting Curve

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]

کاهش *Il4* نسبت به گروه *CC* معنادار بود (P=۰/۰۳۴) (نمودار شماره ۲). از سوی دیگر، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه وجود اختلاف معنی‌دار در بیان ژن *Stat-6* بین گروه‌های پژوهش را نشان داد (P=۰/۰۰۱). به نحوی که کاهش معنادار بیان ژن *Stat-6* نه تنها در گروه EC (P=۰/۰۰۱) و *E* (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد، بلکه این نتایج در گروه CC (P=۰/۰۰۱) نسبت به گروه شاهد نیز مشاهده شد. این یافته‌ها نشان دادند که در گروه EC بیشترین کاهش معنادار و گروه CC کمترین کاهش معنادار در مقایسه با گروه شاهد رخ داده است. علاوه بر این، کاهش *Stat-6* در گروه EC نسبت به گروه CC معنادار بود (P=۰/۰۳۴) (نمودار شماره ۳).

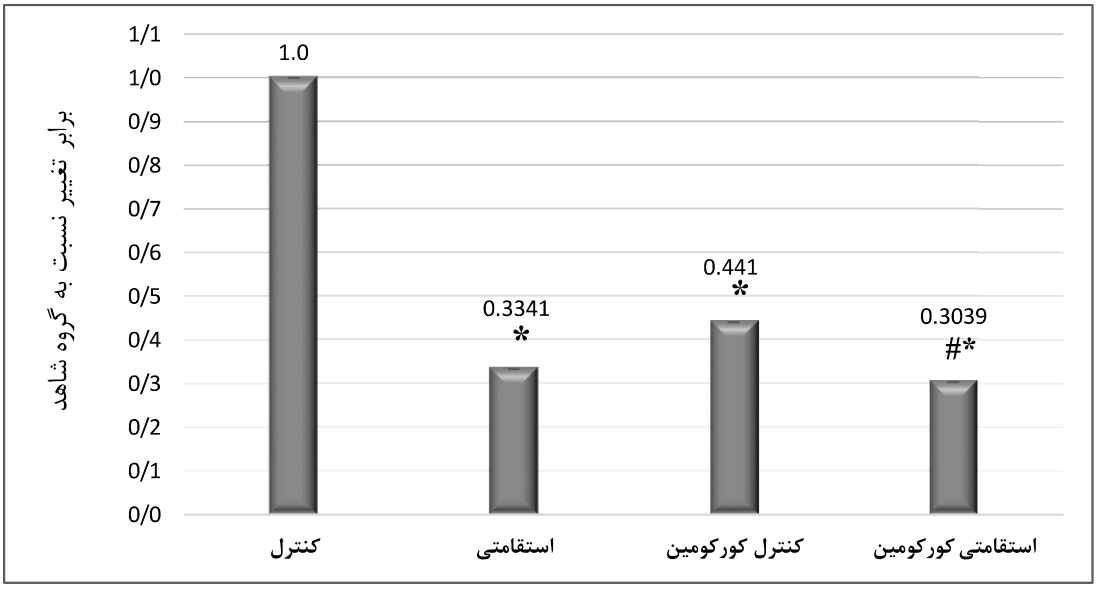


نمودار ۱: تغییرات حجم تومور هفته پنجم به هفته اول موش‌ها در گروه‌های پژوهش
*** معناداری نسبت به گروه شاهد**



نمودار ۲: تغییرات بیان ژن Il4 در گروه‌های پژوهش (برابر تغییر نسبت به گروه شاهد)
*** معناداری نسبت به گروه شاهد # معناداری نسبت به گروه کورکومین**

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]



نمودار ۳: تغییرات بیان ژن *Stat-6* در گروه‌های پژوهش (برابر تغییر نسبت به گروه شاهد)

*** معناداری نسبت به گروه شاهد – # معناداری نسبت به گروه کورکومین**

بحث

در پژوهش حاضر ما نشان دادیم که تمرین استقامتی به همراه کورکومین و بدون آن منجر به کاهش معنادار بیان ژن *Il4* نسبت به گروه شاهد می‌شود، که در این بین، بیشترین تاثیر معنادار در گروه ترکیبی تمرین استقامتی به همراه کورکومین مشاهده شد. علاوه بر این در گروه تمرین استقامتی، تمرین استقامتی به همراه کورکومین و همچنین در گروه کورکومین کاهش معنادار بیان ژن *Stat-6* نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. همچنین کاهش بیان هر دو ژن مذکور در گروه تمرین استقامتی به همراه کورکومین نسبت به گروه کورکومین به شکل معناداری بیشتر بود که نشان از اثر برآیندی ورزش و کورکومین در کنار هم بر بیان ژن‌های مذکور بود. در رابطه با اثر مداخله‌های ورزشی، اصغر توفیقی و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند میزان تولید *Il4* به شکل معناداری در گونه‌های سرطانی به‌دنبال انجام ۸ هفته ورزش استقامتی پیوسته کاهش داشت (۹). آبدالا و همکارانش[3] (۲۰۱۳) نیز نشان دادند فعالیت ورزشی مقادیر بیان *Il4* را در موش‌های مبتلا به سرطان پستان کاهش می‌دهد، که در گروه شاهد نتایج عکس آن مشاهده شد (۱۸). در این رابطه، اثر مهاری تمرین ورزشی هوازی بر رشد و افزایش حجم توده سرطان پستان نیز به اثبات رسیده است (۱۶).

هر چند که مدت زمان اجرای پروتکل‌های ورزشی مذکور با پروتکل ورزشی پژوهش حاضر متفاوت بودند، اما نتایج این مطالعات همسو با نتایج مطالعه حاضر و تایید کننده آنهاست.

از سوی دیگر، در رابطه با مداخله کورکومین، تحقیقی که توسط علیزاده و همکارانش (۲۰۱۵) انجام گرفت نشان داده شد که نانوذرات پلیمری کورکومین باعث مهار تمایز سلولی در کارسینومای کبدی و پستانی می‌شود. به نحوی که این مداخله باعث کاهش اندازه و وزن توده سرطانی نسبت به گروه شاهد گردید (۱۹). در مطالعه‌ای دیگر بروی موش‌های مبتلا به سرطان پستان نشان داده شد که کورکومین به شکل معناداری سبب کند کردن رشد وزن توده سرطانی نسبت به گروه شاهد می‌شود (۲۰). این نتایج نیز با وجود تفاوت در چگونگی اجرای پروتکل‌ها، نه تنها همسو با نتایج مطالعه حاضر بودند، بلکه تاکیدی بر نقش ضد سرطانی کورکومین هستند.

همچنین در مبحث مکانیرمی اثبات شده است که *Il4* نه تنها یک سایتوکاین مهاری و سرکوبگر قوی آپوپتوز است (۲۱، ۲۲)، بلکه به عنوان یک عامل احیاکننده برای سلول‌های سرطانی ایفای نقش می‌کند و سلول‌های سرطانی را از افزایش آپوپتوز ناشی از روش‌های درمانی در امان نگه می‌دارد. به نحوی که، بر اساس شواهد علمی، عود مجدد سرطان در موش‌های فاقد *Il4Rα* و *Stat-6* مشاهده نشده است (۲۳). با این تفاسیر، در مسیر

[3] Abdalla et al

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]

پیام‌دهی *Il4/Stat6*، سایتوکاین *Il4* باعث فعال‌سازی *Stat-6* می‌شود و متعاقب آن *Stat-6* نقش مهم خود را در سلول‌های هدف از طریق ایجاد تغییر در تمایز و رشد سلول و همچنین افزایش مقاومت آنها در برابر آپوپتوز ایفا می‌کند (۴). یک مطالعه در اثبات نقش مهم و عملکرد *Stat-6* القا شده توسط *Il4* نشان داد که تمام اعمال *Il4* در موش‌های فاقد *Stat-6* دچار اختلال شد (۲۴). این نتایج بیانگر نقش اساسی *Stat6* در انتقال سیگنال *Il4* در سلول است. بنابراین با توجه به اینکه میزان بیان ژن *Il4* و *Stat-6* در این پژوهش کاهش پیدا کرد، و با استناد به این پژوهش و پژوهش‌های پیشین می‌توان گفت تمرینات استقامتی و مکمل کورکومین از طریق تاثیر بر مکانیزم‌های درون بافت سرطان شامل مسیر *Il4/Stat-6* باعث کاهش پیشرفت رشد و توسعه توده سرطانی شده و احتمالا می‌تواند به عنوان یک روش کمک درمانی در کنار روش‌های درمانی دیگر برای بیماران سرطانی مورد استفاده قرار گیرد.

از طرفی اثر برآیندی دو مداخله با هم نسبت به مداخله کورکومین به تنهایی بر رشد توده سرطانی و بازداری بیان ژن‌های اینتراتوموری *Il4* و *Stat-6* گویای اثر مفیدتر دو مداخله در کنار هم در روند درمانی سرطان پستان می‌باشد. به نحوی که کورکومین به تنهایی نسبت به گروه شاهد هیچ تاثیر معناداری بر بیان *Il4* در سلول‌های سرطانی نداشت اما در ترکیب با مداخله ورزشی نه تنها این اثر در مقایسه با گروه شاهد معنادار شد، بلکه معناداری آن نسبت به گروه ورزش استقامتی به تنهایی در مهار این ژن معنادارتر و چشمگیرتر بود. محدودیت مطالعات در این حیطه، تفسیر مکانیزمی این نتایج را تا حدودی دشوار کرده است. با این‌حال، مطالعات در دیگر حوزه‌ها نشان داده است که این دو مداخله در کنار هم اثر فزآینده‌ای را نسبت به هر مداخله به تنهایی دارند (۲۵، ۲۶). به نحوی که نشان داده شده است ورزش در ترکیب با کورکومین نسبت به هر یک از مداخله‌ها به تنهایی باعث ایجاد تغییرات چشمگیرتر در برخی از آنزیم‌های سوخت و سازی عضله اسکلتی می‌شود که در نتیجه آن منجر به عملکرد بهتر عضله اسکلتی و افزایش زمان انجام فعالیت ورزشی شد (۲۵). علاوه بر این، در یک مطالعه دیگر محققین نشان دادند که ترکیب دو مداخله تمرین ورزشی و کورکومین باعث کاهش معنادار فاکتور رشد مشتق از پلاکت (*PDGF-BB*) و *TGF-β1* در موش‌هایی شد که در طول ۲ هفته مطالعه ۴ روز گاواژ الکل می‌شدند (۲۶). این مطالعات نیز به نحوی حمایت کننده نتایج مطالعه حاضر در رابطه با اثر برآیندی و فزآینده دو مداخله با هم نسبت به هر کدام به تنهایی می‌باشد که از نقاط قوت پژوهش حاضر به شمار می‌رود. با این وجود، استفاده نکردن از دزهای متفاوت کورکومین جهت تعیین موثرترین دز می‌تواند از نقاط ضعف مطالعه حاضر باشد. در کل بر اساس نتایج پژوهش حاضر و بعضی از پژوهش‌های دیگر می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالا از تمرینات استقامتی با شدت متوسط می‌توان به عنوان یکی از استراتژی‌های موثر در افزایش اثر کورکومین در مهار مکانیزم‌های درگیر در رشد و توسعه سرطان پستان، بهبود و متعاقب آن مهار رشد آنها بهره گرفت. اما برای نتیجه قطعی همچنان به تحقیقات بیشتری نیاز است.

نتیجه‌گیری

پس از بررسی تاثیر یک دوره تمرین استقامتی به همراه مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های *Il4* و *Stat-6* در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان نشان داده شد که پنج هفته تمرین استقامتی به همراه مکمل کورکومین می‌تواند نقش موثرتری در کاهش بیان سطوح *Il4* و *Stat-6* اینتراتوموری و متعاقب آن کاهش چشمگیرتر میزان رشد توده سرطان نسبت به هر مداخله به تنهایی داشته باشد. در کل بر اساس نتایج پژوهش حاضر و برخی از پژوهش‌های پیشین می‌توان نتیجه گرفت که نه تنها تمرینات ورزشی از جمله ورزش استقامتی با شدت متوسط احتمالا می‌تواند یک استراتژی مناسب جهت مهار رشد توده سرطان پستان محسوب گردد، بلکه می‌توان در کنار استفاده از مشتقات داروهای گیاهی همچون کورکومین از این نوع تمرینات جهت ایجاد یک تاثیر برآیندی و موثرتر بر مهار و کند کردن احتمالی مکانیزم‌های درگیر در تکثیر و تمایز سلول‌های سرطانی و متعاقب آن مهار توسعه و رشد توده سرطان پستان نیز بهره برد. نتایج این مطالعه و مطالعات پیش بالینی دیگر پیشنهاد می‌کند که ورزش‌های استقامتی با شدت متوسط در ترکیب با کورکومین احتمالا می‌تواند در مطالعات بالینی به عنوان یکی از راه کارهای موثر در بهبود سرطان به کار گرفته شود. با این‌حال انجام مطالعات آینده در این

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]

راستا جهت قطعیت بخشیدن به شدت و و مدت فعالیت ورزشی مناسب و دز موثر کورکومین ضروری است.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از رساله کارشناسی ارشد مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه الزهرا می‌باشد، از تمامی افرادی که در انجام این پژوهش ما را یاری نموده‌اند تشکر می‌شود.

تعارض منافع

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

References

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin D, Piñeros M, et al. Estimating the Global Cancer Incidence and Mortality in 2018: GLOBOCAN Sources and Methods. International Journal of Cancer. 2019; 144(8):1941-53.
2. Mantovani A, Allavena P ,Sica A, Balkwill F. Cancer-related Inflammation. Nature. 2008; 454(7203):436.
3. 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.
4. Zhang WJ, Li BH, Yang XZ, Li PD, Yuan Q, Liu XH, et al. IL-4-induced Stat6 Activities Affect Apoptosis and Gene Expression in Breast Cancer Cells. Cytokine. 2008; 42(1):39-47.
5. Amal SH. Association of Breast Cancer and In situ expression of Interleukin-4 (IL-4) and IL-10. Almustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences (AJPS). 2010; 8(2): 22-32.
6. Nilsson MI, Bourgeois JM, Nederveen JP, Leite MR, Hettinga BP, Bujak AL, et al. Lifelong Aerobic Exercise Protects Against Inflammaging and Cancer. PloS One. 2019; 25;14(1):1-25.
7. Collao N, Rada I, Francaux M, Deldicque L, Zbinden-Foncea H. Anti-Inflammatory Effect of Exercise Mediated by Toll-Like Receptor Regulation in Innate Immune Cells. A Review: International Reviews of Immunology. 2020; 39(2):39-52.
8. Kazemi A, Agha-Alinejad H, Alizadeh S, Shahbazi S, Amani-Shalamzari S. The Effect of Endurance Training on MiR-155 Expression, STAT3 Gene Expression, and Interleukin 6 Protein in Mice with Breast Cancer. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2015; 21(1):42-52.
9. Toufighi A, Agha Alinezhad H, Mohammad Hasan Z, Keyvani F, Ghasemi A. Effect of Continuous Aerobic Exercise on the Rate of IL-4, INF-& and Proportion of CD4 in Mice with Breast Cancer Tumor. Olympic. 2010; 17(4):73-82.
10. Ravindran J, Prasad S, Aggarwal BB. Curcumin and Cancer Cells: How Many Ways Can Curry Kill Tumor Cells Selectively? The AAPS Journal. 2009; 11(3):495-510.
11. Hosseinimehr SJ. A Review of Preventive and Therapeutic Effects of Curcumin in Patients with Cancer. J Clin Excell. 2014; 2(2):13.
12. Dhillon N, Aggarwal BB, Newman RA, Wolff RA, Kunnumakkara AB, Abbruzzese JL, Ng CS, Badmaev V, Kurzrock R. Phase II Trial Of Curcumin in Patients with Advanced Pancreatic Cancer. Clinical Cancer Research. 2008; 14(14): 4491-9.
13. Mijwel S, Bolam KA, Gerrevall J, Foukakis T, Wengström Y, Rundqvist H. Effects of Exercise on Chemotherapy Completion and Hospitalization Rates: The Optitrain Breast Cancer Trial. The Oncologist. 2020; 25(1):23-32.
14. Ahmadian M, Azizbeigi K, Delphan M, Atashak S. The Effect of High Intensity Interval Training on STAT-3 and Angiopoietin-1 Gene Expression, and tie-2 Protein in Mice with Breast Cancer. Iranian Quarterly Journal of Breast Disease. 2018; 11(1):37-46.
15. Pulaski BA, Ostrand-Rosenberg S. Mouse 4T1 Breast Tumor Model. Current Protocols in Immunology. 2000; 39(1):20-2.
16. Delphan M, Agha Alinejad H, Delfan M, Dehghan S. Intratumoral Effects of

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]

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.

17. Shen Y, Han Z, Liu S, Jiao Y, Li Y, Yuan H. Curcumin Inhibits the Tumorigenesis of Breast Cancer by Blocking Tafazzin/Yes-Associated Protein Axis. Cancer Management and Research. 2020; 12:1493-502.
18. Abdalla DR, Murta EF, Michelin MA. The Influence of Physical Activity on the Profile of Immune Response Cells and Cytokine Synthesis in Mice with Experimental Breast Tumors Induced By 7, 12-Dimethylbenzanthracene. European Journal of Cancer Prevention. 2013; 22(3):251-8.
19. Alizadeh AM, Sadeghizadeh M, Najafi F, Ardestani SK, Erfani-Moghadam V, Khaniki M, et al. Encapsulation of Curcumin in Diblock Copolymer Micelles for Cancer Therapy. BioMed Research International. 2015; 824746: 1-14.
20. Shiri S, Alizadeh AM, Baradaran B, Farhanghi B, Shanehbandi D, Khodayari S, et al. Dendrosomal Curcumin Suppresses Metastatic Breast Cancer in Mice by Changing M1/M2 Macrophage Balance in the Tumor Microenvironment. Asian Pac J Cancer Prev. 2015; 16(9):3917-22.
21. Zubiaga A, Munoz E, Huber B. IL-4 and IL-2 Selectively Rescue Th Cell Subsets from Glucocorticoid-Induced Apoptosis. The Journal of Immunology. 1992; 149(1):107-12.
22. Zamorano J, Kelly AE, Austrian J, Helen YW, Keegan AD. Costimulation of Resting B Lymphocytes Alters the IL-4-activated IRS2 Signaling Pathway in a STAT6 Independent Manner: Implications For Cell Survival and Proliferation. Cell Research.2001;11(1):44-54.
23. Terabe M, Matsui S, Noben-Trauth N, Chen H, Watson C, Donaldson DD, et al. NKT Cell-Mediated Repression of Tumor Immunosurveillance by IL-13 and the IL-4R-STAT6 Pathway. Nature Immunology. 2000; 1(6):515-20.
24. Takeda K, Kishimoto T, Akira S. STAT6: Its Role in Interleukin 4-Mediated Biological Functions. Journal of molecular medicine. 1997; 75(5):317-26.
25. Chen W. Effects of Different Doses of Curcumin Supplementation on Myocardium and Exercise Time of Exercise Rats. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 2020; 70(2): 346-53.
26. Dalvand H, Hematfar A, Behpoor N. Interactive Effects of Exhaustive Exercise Training and Curcumin Supplementation on PDGF-BB and TGF-β1 Gene Expressions in Alcoholic Rats. Nutrition and Food Sciences Research. 2020; 7(1):33-40.

[Downloaded from ijbd.ir on 2028-01-08]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1399.13.3.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.13.3.52]