مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۷، ویژه‌نامه فیزیولوژی ورزش، ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

تاثیر ده هفته تمرین تناوبی شدید بر حجم تومور، پاسخ پروتئین IGF-1، ژن‌های *AKT* و *mTORC1* در میوکـارد موش مبتلا به سرطان پستان

احسان حسین زاده نازلو : گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

مقصود پیری: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) m.peeri@iauctb.ac.ir

مریم دلفان: گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: تمرین منظم با حجم متفاوت به وسیله راه اندازی مسیرهای سیگنالی در تعـدیل سـنتز پـروتئین و بیـان ژن، از پیشرفت حجم تومور پیشگیری کرده و کاردیومیوپاتی را در افراد مبتلا به تومور پستان کاهش می دهد. هـدف از انجـام پـژوهش حاضر تاثیر۱۰هفته تمرین تناوبی شدید بر حجم تومور، پاسخ پروتئین IGF-1 ، ژن‌های AKT و m TORC-1 در میوکـارد موش‌های مبتلا به سرطان پستان بود.

روش کار: پژوهش حاضر از نوع تجربی است. بدین منظور ۱۲ سر موش ماده نژاد بالبسی به صورت تصادفی به دو گروه ۶ تایی: تمرین تناوبی شدید (HIIT) و کنترل (C) تقسیم شدند. القاء تومور به وسیله تزریق MC4-L2 انجام شد. تمرین تناوبی شدید به مدت ۳۰ دقیقه شامل۶ تناوب در ۳ دقیقه و ۲۰ ثانیه به ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_2max با استراحت ۹۰ ثانیه‌ای در بین هرتناوب با شدت ۳۰تا ۳۵ درصد VO_2max با شیب ۱۵درصد، ۵ روز در هفته به مدت ۱۰ هفته انجام شد. حجم تومور به صورت هفتگی توسط کولیس اندازه گیری و ثبت گردید. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین موش‌ها قربانی و بطن چپ آن‌ها خارج شد. بـرای سنجش سطوح سنتز پروتئین IGF-1 از روش SDS-PAGE و آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه استفاده شد و جهت سنجش بیان ژن از روش Realtime-PCR و ژن کنترل GAPDH با پرایمرهای مستقیم و معکوس استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد پروتئین IGF-1 در گروه تمرین تناوبی شدید نسبت به گـروه کنتـرل (p=۰/۰۰۵) افـزایش معنـاداری داشت. همینطور بیان ژن هـای AKT (p=۰/۰۱) و m TORC1 (p=۰/۰۱) در گـروه تمـرین نسـبت بـه کنتـرل افـزایش معنی‌داری داشتند. حجم تومور نیز در گروه تمرین نسبت به کنترل کاهش معناداری داشت (p=۰/۰۰۶).

نتیجه‌گیری: طبق نتایج بدست آمده، احتمالا تمرین تناوبی شدید می‌تواند حجم تومور را کـاهش دهـد و بـا افـزایش پـروتئین IGF-1، ژن‌های AKT و m TORC1 در میوسیت موش‌های مبتلا به سرطان پستان عملکرد قلب را بهبود بخشد.

کلیدواژه‌ها

تومور پستان،

تمرین تناوبی شدید،

IGF-1،

AKT،

m TORC1

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۴/۱۶

تاریخ چاپ: ۹۹/۱۲/۰۷

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Hossenzadeh nazloo E, Peeri M, Delfan M. Effect of 10 weeks of high intencity interval training on tumor volume ratio, responses to IGF-1 protein , gene expression of AKT and mTORC1 in rat's myocardium with breast cancer. Razi J Med Sci. 2020;27(Special Issue-Sport Physiology):58-67.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]

Razi Journal of Medical Sciences. 2020;27(Special Issue-Sport Physiology):58-67.
http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Effect of 10 weeks of high intencity interval training on tumor volume ratio, responses to IGF-1 protein , gene expression of AKT and mTORC1 in rat's myocardium with breast cancer

Ehsan Hossenzadeh nazloo: Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran
Maghsoud Peeri: Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran (* Corresponding author) m.peeri@iauctb.ac.ir
Maryam Delfan: Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Nowadays, breast cancer is the most common type of cancer among women in the world. In this disease, increased oxidative stress and causes the tumor cell to proliferate. Because decreased the function of estrogen receptors inhibits the synthesis and function of insulin growth factor 1 and inhibits signaling of the protein tyrosine kinase with the inhibition of mechanistic target of rapamycin complex 1, After that, weakens the aerobic capacity and occurs heart disorder. However Regular exercise training it diferense volume Prevents an increase in tumor volume. By setting up signal paths In gene expression Cardiomyopathy Reduces it in people with breast cancer. The purpose of the present study Effect of 10 weeks of High intensity interval training on tumor volume, Response IGF-1, Genes AKT,m TORC-1 Myocardium was in mice with breast cancer.
Methods: This is an experimental study. For this purpose 12 Balbesian female mice were divided into 2 groups of 6; High intensity interval training (H) and Control (C) Tumor induction By injection MC4-L2Done. The exercise protocol was performed for 10 weeks of the high intensity interval training group was as follows 35 minutes: After 5 minutes of warm-up program with 30 to 40% VO_2max intensity, High intensity interval training in 6 cycles between 85 to 90% VO_2max in 3 minutes and 20 seconds, with 90 seconds of active rest between each cycle of 30 to 35% VO_2max and 5 minutes of cold Was performed with an intensity of 30 to 40% VO_2max. Tumor volume weekly It was measured and recorded by a caliper. 24 hours after the last training session The mice were sacrificed and their left ventricle ejected. SDS-PAGE and primary and secondary antibodies were used to measure IGF-1 protein synthesis levels, and Realtime-PCR and GAPDH control genes with forward and reverse primers were used to measure gene expression.
Results: The results showed that IGF-1 protein in HIIT group increased show any significant changes compared to the control group (p=0.005). gene expression of AKT in HIIT group (p=0.01) Increase compared to the control group. The m TORC-1 gene expression in H group (p=0.01) was significantly higher than the control group. tumor volume in the H group showed a significant decrease compared to the control group (p=0.006). According to the findings, tumor volume in the intense periodic exercise group in the tenth week compared to the first week showed a significant decrease. Also, the levels of IGF-1 and AKT and m TORC-1 genes of myocytes were significantly increased in the exercise group.
Conclusion: by Performing HIIT training inhibits the micro-molecular pathway of

Keywords
Breast Cancer,
High Intensity Interval Training,
IGF-1,
AKT,
m TORC1

Received: 06/07/2020
Published: 26/02/2021

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]

cancer and the risk of metastasis because the energy crisis creates mitochondrial biogenesis during intermittent performances and reduces the risk of heart disease in cancer patients. According to the results, it is possible that 10 weeks of High intensity interval training can be reduced the tumor volume and improve the function of the cardiac by increasing IGF-1 protein, AKT and m TORC1 genes in myocytes of mice with breast cancer.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Hossenzadeh nazloo E, Peeri M, Delfan M. Effect of 10 weeks of high intencity interval training on tumor volume ratio, responses to IGF-1 protein , gene expression of AKT and mTORC1 in rat's myocardium with breast cancer. Razi J Med Sci. 2020;27(Special Issue-Sport Physiology):58-67.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]

مقدمه

امروزه سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در میان زنان جهان می‌باشد. افراد مبتلا در معرض خطر بالاتری به بیماری قلبی عروقی نسبت به زنان سالم قرار دارند (۱). در ایجاد ابتلا به تومور پستان فعالیت گیرنده‌های استروژن کاهش یافته و رادیکال آزاد تولید می‌کند (۲)، پس از آن فشار اکسایشی افزایش می‌یابد و موجب تکثیر سلول تومور می‌شود و ظرفیت هوازی ضعیف می‌شود (۳). کاهش در عملکرد گیرنده‌های استروژن باعث تضعیف در سنتز و عملکرد فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (Insulin growth factor) شده (که از جنس اسید آمینه و استروئیدی است) (۴)، قدرت عضلانی و قلبی عروقی کاهش می‌یابد (۳). همچنین استرس اکسایشی ایجاد شده به دلیل ابتلا به سرطان پستان، ظرفیت پذیرش اکسیژن توسط میوسیت و عضله اسکلتی را کاهش می‌دهد (۴). پس از آن آبشارهای اتوفاژی (Autophagy) سلول (خودخواری) به وسیله راه اندازی پروتئین‌های زیر گروه سرچنگالی (Forkhead transcription factors of the O class) از مسیر پروتئین‌های کینازی بتای تنفس سلولی (Necular factor kinase beta)، سلول‌های سالمی را که هنوز به تومور مبتلا نشده اند به سمت آپوپتوز (مرگ برنامه ریزی شده سلول) می‌کشاند (۵). تضعیف در عملکرد فاکتور رشد شبه انسولین ۱ سیگنال‌دهی پروتئین کینازی در مسیر سرین تروئونین کیناز (Activation of the serine – threonine kinase B) را دچارنقصان می‌کند (۶). سپس عملکرد گیرنده پروتئین راپامایسین ۱ (complex 1 Mechanistic target of rapamycin) تضعیف می‌شود (۷). از طرفی نقص در فعالیت گیرنده راپامایسین ۱ و پروتئین سرین تروئونین کیناز بتا باعث کاهش اتصال انسولین به گیرنده‌اش شده و در تولید فاکتور رشد شبه انسولین اختلال ایجاد کرده و نیز در راه اندازی مسیرهای وابسته به گیرنده استروژن نقصان بیشتری ایجاد می‌کند (۸). درحالیکه اگر پروتئین راپامایسین ۱ توسط پروتئین سرین ترئونین کیناز راه اندازی شود در مسیرهای وابسته به خود گیرنده استروژن را فعال می‌کند (۷). لازم به ذکر است که پروتئین راپامایسین ۱ همراه با فاکتور رشد شبه انسولین در سنتز پروتئین موثر بوده و در پاسخ‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی شرکت می‌کند (۹)؛ زیرا گیرنده پروتئین راپامایسین ۱ به تغییرات شیمیائی- مکانیکی پاسخ می‌دهد (۹). با این حال افزایش بیان فاکتور شبه انسولین ۱ در میوسیت موجب بهبود در قدرت و ساختار قلب می‌شود (۸). همچنین اگر پروتئین راپامایسین فعال شود، باعث راه اندازی پروتئین‌های فسفوریلاز ریبوزومی ۷۰ کیلودالتونی (Phosphorylation of the 70-KDas6 proteinkinase) و عامل ترجمه یوکاریوتی متصل شونده (Eukaryotic initiation factor 4E) به گیرنده پروتئینی خود می‌گردد و هایپرتروفی فیزیولوژیک در بافت قلب ایجاد می‌کند (۸). لازم به ذکر است که در افراد مبتلا به تومور، درمان‌های متداول از جمله جراحی، شیمی درمانی، رادیوتراپی و هورمون درمانی نیز در ابتلا به اختلال قلب و عروق نقش دارند (۷). با این حال انجام برنامه‌های ورزشی در کنار درمان‌های متداول توسط متخصصان مورد توجه قرار گرفته است (۱۰)؛ زیرا عنوان شده اجرای تمرین موجب بهبود آمادگی هوازی و کاهش عوارض ناخواسته بالینی و درمانی می‌شود (۱۱). از طرفی عنوان شده تمرین با حجم مناسب می‌تواند باعث عملکرد مناسب سیستم ایمنی، بهبود عملکرد قلبی عروقی و کاهش خستگی زود هنگام در مبتلایان به سرطان شود (۱۰). از طرفی تمرین شدید با طول دوره مناسب می‌تواند رگزائی را در بافت تومور کاهش دهد و متعاقب آن فشار اکسایشی کاهش یابد (۱۲). در این خصوص برخی مطالعات اظهار داشتند، تمرین با شدت کم و در مدت طولانی با تاثیر بر گیرنده‌های عصبی حجم تومور موثرتر از تمرین با شدت بالا می‌باشد (۱۳). در حالیکه بعضی دیگر عنوان کردند تمرینات تناوبی شدید به دلیل افزایش بالاتر در متابولیسم سلولی در طول اجرا، از جهش‌های ژن در بیماران متابولیکی جلوگیری می‌کند (۱۴)؛ زیرا ریکاوری فعال در بین تناوب‌های شدید خون و اکسیژن رسانی را به عضلات اسکلتی و عضله قلبی افزایش می‌دهد (۱۵). به نظر می‌رسد که تمرین تناوبی شدید در بهبود تغییرات بالینی موثر باشد (۱۶). با این حال تا کنون مطالعه‌ای به بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید به عنوان استراتژی موثر در تنظیم بیان ژن در میوکارد مبتلایان به تومور پستان نپرداخته و مطالعه در این خصوص محدود است (۸). لذا مطالعه حاضر برای اولین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]

بار در بررسی تاثیر ۱۰ هفته تمرین تناوبی شدید بر حجم تومور و پاسخ پروتئین IGF-1، ژن های AKT و m TORC-1 در میوکارد موش مبتلا به سرطان پستان انجام شد.

روش کار

جهت انجام این پژوهش تعداد ۱۲ سر موش ماده نژاد بالبسی، سن ۶ تا ۸ هفته، وزن ۲۰ تا ۱۸ گرم از مؤسسه تحقیقات پاستور تهیه و به آزمایشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران انتقال داده شد. آزمودنی‌ها به صورت تصادفی به دو گروه ۶ تایی شامل: ۱-گروه تمرین تناوبی شدید (H)، ۲-گروه کنترل (C) تقسیم بندی شدند. نگهداری آنها در دمای ۲۳ تا ۲۵ درجهٔ سانتی گراد، رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد و سیکل روشنایی – تاریکی۱۲:۱۲, در قفس های مخصوص با دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد حیوانات به صورت پلت استاندارد با رعایت اصول اخلاقی کاربا حیوانات (برابر پروتکل هلیسنگی ۲۰۰۶) و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران با اخذ کد اخلاق IR.SSRI.REC.1398.621 نگهداری شدند. جهت القاء تومور پس از تهیه رده سلولی MC4-L2 از مرکز ذخایر ژنتیک، سلول ها در فلاکس T75 در محیط کشت DMEM/F-12 به وسیله ۱۵ میلی مول بافر HEPES استرپتومایسین ۱۰۰ mg/ml کشت داده شد. بعد از انجام چندین بار پاساژ سلولی و نیز تهیه سوسپانسیون سلولی، تعداد یک میلیون سلول در بافر PBS به صورت زیرجلدی به پهلوی موش ها تزریق شد. پس از گذشت ۸ تا ۱۲ روز تومور پستان به صورت قابل لمس با دست پدیدار گردید. سپس حجم تومور به صورت هفتگی طبق مطالعه جنسن و همکاران (Jensen and et all2008) (۲۰۰۸) به وسیله کولیس در دو بعد طول (L) و عرض (W) با زاویه ۹۰ درجه نسبت به طول توسط فرمول جنسن و همکاران (۲۰۰۸) اندازه گیری شد [V=1/2(L2 *W)] (۱۷).

ارزیابی توان هوازی موش‌ها: پروتکل ارزیابی توان هوازی در ۵ هفته اول به صورت یکبار در هفته و در ۵ هفته دوم هر دو هفته یکبار انجام شد (۱۸). به این صورت که پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت (۳m/s٪)، شیب صفر درصد درهر ۳ دقیقه یکبار به سرعت نوار گردان ۳m/s٪ دیگر افزایش داده می شد. حداکثر سرعت بیشینه زمانی بود که آزمودنی ها حداقل ۱ تا ۳ دقیقه نتوانند با سرعت ثابت بدوند و بلافاصله پس از آن با افزایش سرعت قادر به دویدن نبودند. نتایج برخی از پژوهش ها نشان داد که ارتباط بالایی بین سرعت نوار گردان و VCO_2/VO_2 موش‌ها وجود دارد r=۰/۹۸ (P≤۰/۰۰۰۵)، به طوریکه می‌توان با استفاده از حداکثر سرعت در زمان واماندگی حداکثر اکسیژن مصرفی را پیش بینی کرد (۱۹). طراحی شدت مورد نظر اجرای تمرین با توجه به این سرعت به دست آمده تنظیم گردید. همچنین خستگی در موش‌ها به دلیل سرطان و عدم توانائی در اجرای تمرین نادیده گرفته نشد (۱۸).

برنامه تمرین تناوبی شدید (HIIT): پس از آشناسازی موش ها به مدت یک هفته با دویدن بر روی تردمیل، ابتدا پایلوت برنامه تمرینی بر روی ۵ سر موش انجام شد. سپس طبق مطالعه لارسن و همکاران (Laursen and et all 2002) (۲۰۰۲) به مدت ۱۰ هفته و در هر هفته ۵ روز اجرای تمرین برای گروه تمرین تناوبی شدید به مدت ۳۵ دقیقه به این صورت انجام شد: پس از ۵ دقیقه برنامه گرم کردن با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد VO_2max، تمرین تناوبی شدید در ۶ تناوب بین ۸۵ تا ۹۰٪ VO_2max در ۳ دقیقه و ۲۰ ثانیه، با ۹۰ ثانیه استراحت فعال بین هر تناوب با شدت ۳۰ تا ۳۵٪VO_2max و نیز۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد VO2max انجام شد (۲۰). همچنین گروه کنترل جهت ایجاد همسان سازی با محیط به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه بر روی نوارگردان بی حرکت قرار داده شدند.

استخراج پروتئین تام سلولی به روش Western blot برای سنجش پروتئین IGF-1 ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسهٔ تمرین، موش‌ها به وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰mg/kg) و زایلازین (۱۰mg/kg) بیهوش شدند. نمونه خونی به طور مستقیم از بطن چپ موش ها جمع‌آوری و جداسازی پلاسما با سانتریفیوژ کردن در دمای ۱۵ درجهٔ سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه انجام شد. سپس بافت بطن چپ بلافاصله استخراج و در نیتروژن ۲۰- منجمد و برای سنجش بیان ژنی در فریزر ۸۰- نگه داری شد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]

جدول ۱- توالی پرایمری ژن‌های مورد مطالعه

ژن		توالی پرایمر (5′ → 3′)	اندازه(bp)
mTORC1			
	Forward	TAGGAATTGGGATATGGAGTTTT	307
	Reserve	TTACAAACCCACAACAAACAAC	
AKT			
	Forward	CTACCTTCCTGTCCACCTTC	211
	Reserve	CTCCAGTGCATTGCCCCACT	
GAPDH			
	Forward	GAAGGTGAAGGTCGGAGTCA	109
	Reserve	TTGAGGTCAATGAAGGGGTC	

استخراج پروتئین با روش برد فورد و جداسازی توسط الکتروفروز با ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد (SDS-PAGE) بر اساس وزن مولکولی استفاده شد. جهت تهیه استانداردها برای رسم منحنی مقایر ۲۰،۱۰ و ۳۰ میکروگرم در میکرولیتر با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومترخوانده شد. جهت ساخت بافرنمونه 2X ابتدا ۰/۵ میلی گرم سدیم دو دسیل سولفات (SDS) در ۱/۲۵ میلی لیتر از بافر تریس در محیط PH۶/۸ حل شد. پس از دناتوره شدن، نمونه ها به ژل جدا کننده، ولتاژ ۱۲۰ ولت اضافه شد و زمان لازم براساس وزن مولکولی پروتئین ها بین ۱۰۰ تا ۱۲۰ دقیقه درنظرگرفته شد. جهت پیشگیری ازاتصال غیر آنتی بادی به سایت های پروتئینی جایگاه‌ها با محلول‌های مخصوص بلاک شدند. آنتی بادی مخصوص طی دو مرحله ۱- آنتی بادی اولیه اختصاصی با غلظت ۰/۰۰۱ که نشان دار نبود به مدت یک شب به آرامی مخلوط شد، ۲- آنتی بادی کونژوگه علیه آنتی بادی با غلظت ۰/۰۰۰۳ به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق به آرامی مخلوط گردید. غشاء با TBS-T در سه مرحله به مدت ۱۰ دقیقه شستشو داده شد. مشخص کردن پروتئین‌ها نیز توسط کمپلکس آنتی‌ژن-آنتی بادی با تاثیر غلظت آنزیم به سوبسترا توسط اکوکاردیوگرافی بر روی یک صفحه پلاستیکی در کاست ثابت به شکل فیلم های سیاه مشخص گردید.

استخراج RNA از بافت و سنتز CDNA برای سنجش ژن های AKT و TORC-1 m جهت سنجش بیان ژن از روش Realtime-PCR با Premix Extaqit و از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. ابتدا cDNA (Qiagen, Hilden, Germany) سنتز شده برای ژن‌های مورد پژوهش با ۴۰ میکرو لیتر RNase & DNase -free water رقیق شد. ۱/۵ میکرولیتر از هر یک از رقت‌ها به همراه ۷/۵ میکرولیتر Master Mix و یک میکرولیتر از پرایمرها Forward و یک میکرولیتر از پرایمر Backward در چهار میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز (Nuclease –free Water) برای رسیدن به حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر به خوبی حل و مخلوط شد. تمام واکنش‌ها به شکل دوتایی (دابلیکیت) انجام شد. درنهایت میکروتیوپ‌ها در محل مخصوص خود در دستگاه قرار داده شد و واکنش‌های تکثیر در طی ۴۰ سیکل بر اساس دستورالعمل سازنده کیت انجام شد. واکنش تکثیر هر یک از ژن‌های مورد نظر در مطالعه نیز، همان‌طورکه در بالا ذکر گردید انجام شد با این اختلاف که واکنش تکثیر فقط برای یک رقت از نمونه (رقت بهینه) الگو انجام شد. جهت کنترل کیفی محصول واکنش GAPDH مربوط به نمونه بر روی ژل دو درصد انتقال داده شد و از نظر وجود و یا عدم وجود محصول بررسی شد. توالی پرایمرها در جدول ۱ نشان داده شده است.

تجزیه و تحلیل آماری: کمی سازی بیان ژن های مورد نظرتوسط فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ و قادیر change fold محاسبه شد. کمی سازی پروتئین به وسیله وسترن بلات و توسط نرم افزار image انجام شد.نر نرمالودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک مشخص شد. جهت تعیین اختلاف بین گروهی از آزمون T مستقل استفاده شد. همه تحلیل ها با نرم افزار Graph pad prism نسخه ۸ در سطح معنی داری $P\leq$٪۵ محاسبه شد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]

یافته‌ها

یافته‌های پژوهش حاضر در جدول ۲ نشان داده شده است. پروتئین IGF-1 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری نشان داد (P=۰/۰۰۵). ژن AKT در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۱). بیان ژن m TORC-1 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری مشاهده شد (P=۰/۰۱). نسبت حجم تومور در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت (P=۰/۰۰۶). شکل ۱، باندهای سنتز پروتئین IGF-1 به B-actin به تفکیک در دو گروه را نشان می‌دهد.

بحث

مطالعه حاضر به بررسی اثر ۱۰ هفته تمرین تناوبی شدید بر حجم تومور، پاسخ پروتئین IGF-1، ژن‌های AKT، m TORC-1 میوکارد موش های مبتلا به سرطان پستان پرداخت. بر طبق یافته های بدست آمده حجم تومور در گروه تمرین تناوبی شدید درهفته دهم نسبت به هفته اول کاهش معناداری نشان داد. همچنین مقادیر IGF-1 و ژن های AKT و m TORC-1 میوسیت نیز در گروه تمرین افزایش معناداری داشتند. همانطوری که عنوان شد در خصوص ایجاد و توسعه تومور استرس اکسایشی باعث کاهش فعالیت پروتئین‌های تیروزین کینازی، پروتئین سروتوئین و

جدول ۲– مقادیر بیان پروتئین IGF-1، ژن‌های AKT، m TORC1 و حجم تومور به تفکیک در دو گروه پژوهش

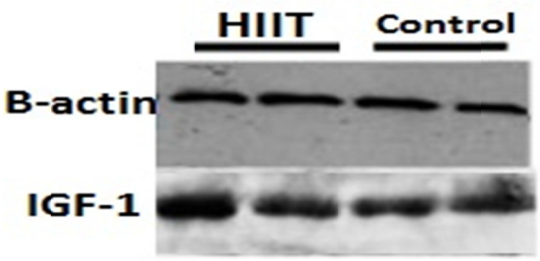
متغیر	گروه کنترل (C)	گروه تمرین تناوبی شدید (H)	مقادیر p
بیان پروتئین IGF-1	۰/۹۸±۰/۲۳	۱۲/۷۰±۱/۳۶	p=۰/۰۰۵
بیان ژن AKT	۱	۱/۹۴±۰/۷۶	p=۰/۰۱
بیان ژن m TORC-1	۱	۱/۸۶±۰/۶۶	p=۰/۰۱
حجم تومور (mm/m^2)	۱۱/۹۳±۰/۶۹	۷/۳۰±۱/۱۲	p=۰/۰۰۶

*سطح معناداری ۰/۰۵

مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده است.

جدول ۳– تغییرات بیان پروتئین IGF-1، ژن های AKT، m TORC1 و حجم تومور به تفکیک در دو گروه پژوهش

متغیر	گروه کنترل (C)	گروه تمرین تناوبی شدید (H)
IGF-1	۰/۹۳۶۷ ± ۰/۰۶۷۱۳	۱/۳۲۳۳ ± ۰/۲۰۹۷۱
AKT	۱/۰۰۰۰ ± ۰/۰۰۰۰	۲/۰۴۳۳ ± ۰/۶۳۴۴۷
m TORC-1	۱/۰۰۰۰ ± ۰/۰۰۰۰	۱/۸۹۶۷ ± ۰/۵۴۹۵۳
Tumor Volume(mm/m^2)	۱۵۰۳/۴۷۸۳ ± ۹۵/۲۷۵۶۹	۱۳۱/۸۵۸۳ ± ۸۹/۹۷۱۹۵



شکل ۲– سنتز پروتئین IGF-1 به B-actin به تفکیک در دو گروه

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]

خانواده آنها در میوسیت می‌شود، به دنبال آن ساختار و عملکرد قلب تضعیف می‌شود (۱۲). از طرف دیگر نقص در فعالیت پروتئین‌های کینازی سرین ترئونین کیناز و راپامایسین موجب افزایش مقاومت به انسولین شده، التهاب ایجاد می‌شود (۲۱) که در پاسخ به آن متاستاز سلول افزایش یافته ظرفیت هوازی کاهش می‌یابد (۱۵). استرس سلولی و التهاب دو مشخصه اصلی ایجاد و گسترش تومور می‌باشد (۱۲). امروزه به انجام برنامه ورزشی با حجم مناسب در کنترل و تنظیم سنتز پروتئین، بهبود عملکرد عضلات اسکلتی، قلبی و کاهش خستگی زود هنگام در مبتلایان به سرطان به عنوان راهکار کمک درمانی توجه می‌شود (۱۱). با این حال عنوان شده، افراد مبتلا پس از تشخیص به سمت بی‌تحرکی تمایل دارند (۲۱). در این رابطه می‌توان به اجرای تمرین HIIT توجه شود، زیرا در مدت کمتری قابلیت اجرا دارد و با استراحت کم شدت بین اجراهای شدید متناوب، خستگی مرکزی کمتری ایجاد می‌کند (۲۲) و در وهله های ریکاوری بین هرتناوب خون‌رسانی بالاتری به عضلات فعال و میوسیت می‌رساند (۱۲). همینطور بار مکانیکی حاصل از این نوع تمرین موجب افزایش در تولید و آزاد سازی پروتئین راپامایسین۱ در میوسیت می‌شود (۹). همچنین عنوان شده تمرین شدید با راه اندازی مسیرهای مستقل از انسولین ناقل گلوکز۴ را از داخل به سطح سلول حرکت می‌دهد و موجب مصرف گلوکز می‌شود، بعد از ورزش اتصال انسولین به گیرنده‌اش افزایش یافته و التهاب سلول کاهش می‌یابد (۲۱). همچنین مصرف گلوکز در تمرین HIIT با افزایش فعالیت پروتئین کینازی اینوزیتول فسفات کیناز۳، تولید پروتئین اینوزیتول فسفات۳ و نیز پروتئین فسفواینوزیتول کیناز۱ (Phosphoinosited - dependent protein kinases -1)، پروتئین سرین ترئونین کیناز را جابجا می‌کند، سپس کمپلکس راپامایسین راه اندازی می‌شود و متابولیسم سلولی‌قلب بهبود می‌یابد (۹). مسیر دیگر در راه اندازی متابولیسم انرژی در تمرین HIIT فعالیت کاتکولامین‌ها خصوصا اپی‌نفرین بیان شده، زیرا باعث می‌شود ترشح هورمون گلوکاگن بر انسولین پیشی بگیرد و مسیر ریز مولکولی ایجاد سرطان و خطر متاستاز مهار شود (۲۱). همچنین عنوان شده بحران انرژی در اجرای تمرین شدید بیوژنز میتوکندریایی ایجاد می‌کند (۲۱) و به وسیله تولید پروکسی زوم گاما (۲۱) و آزادسازی پروتئین‌های شوک گرمائی در بیماران مبتلا به سرطان موجب بازتوانی عضله قلب می‌شود (۱۵). در مطالعه‌ای که توسط دلوکا و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد، نتایج نشان داد ۲۴ هفته تمرین ترکیبی هوازی-قدرتی VO_2 max را در بیماران مبتلا به سرطان پستان افزایش و حجم تومور را کاهش می‌دهد (۱۶)؛ که این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر همسو است. در حالیکه بکورا و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه خود اظهار داشتند ۱۰ هفته تمرینHIIT، ۵ روز در هفته و به مدت ۳۰ دقیقه با۸۵ درصد VO_2 max حجم تومور را افزایش می‌دهد (۱۴). این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر ناهمسو است. در حالیکه کولبرت و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه خود عنوان کردند، ۲۱ هفته تمرین HIIT بر روی تردمیل با شیب ۵ درصد به مدت۲۰ دقیقه و ۲۴ هفته تمرین با شدت کم ۵ روز در هفته و به مدت۴۵ دقیقه در روز بر حجم تومور بی تاثیر است (۱۳). این نتایج نیز با یافته‌های مطالعه حاضر نا همسو می‌باشد؛ اما آگوستینی و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه خود چنین نتیجه گیری کردند که تمرین شدید (HIIT) موجب کاهش حجم تومور شده، ساختار و عملکرد عضله اسکلتی و قلبی را بهبود می‌دهد (۲۱). این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر همسو است. مدیروس و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه خود به بررسی تاثیر۸ هفته تمرین شنا با شدت متوسط بر روی موش‌های مبتلا به سرطان چنین نتیجه‌گیری کردند که تمرین با شدت متوسط با تاثیر بر افزایش عملکرد گیرنده دوپامین، فاکتور رشد اپی تلیال را در بافت مبتلا به تومور کاهش داده، تهاجم تومور را مهار می‌کند و موجب افزایش هایپرتروفی در بافت قلب می‌شود (۲۳). در ارتباط با ژن های AKT و mTORC-1، Mc Mullen و همکاران نشان دادند، هنگامی که mTOR توسط راپامایسین مهار شود، می تواند هایپرتروفی قلبی را به میزان ۶۸ درصد بدون هیچگونه جریان منفی در عملکرد قلبی کاهش دهد (۲۴). در مطالعه حاضر، هم راستا با مطالعات پیشین افزایش معناداری در بیان نسبی ژن mTOR به دنبال فعالیت ۱۰ هفته‌ای مشاهده شد این افزایش در طی فعالیت ورزشی می‌تواند ناشی از اثرات نوع فعالیت

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]

ورزشی باشد. Akt در مسیر سیگنالی mTOR و به دنبال آن در رشد سلولی و سنتز پروتیئن نقش مهمی دارد. در مطالعه حاضر نشان داده شده است که تمرین تناوبی شدید منجر به فعال شدن Akt می‌شود که با یافته‌های Debosche و همکاران همسو (۲۵) و با یافته‌های Kemi و همکاران در تضاد است (۲۶). آیرون و همکاران کاهش معناداری را در سطح IGF-1 آزمودنی‌های مبتلا به سرطان پستان نشان دادند که با نتایج مطالعه حاضر همسو نیست. تمرینات ورزشی آن‌ها تمرینات هوازی با شدت متوسط ۱۵۰ دقیقه در هفته بود که در بیش از ۶ ماه اجرا شد (۲۷). در مطالعه حاضر پس از ۱۰ هفته تمرین تمرین تناوبی شدید سطوح IGF-1 با مداخله تمرینی نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت که احتمالا این تفاوت به نوع تمرین و شدت تمرین مرتبط است. چرا که گزارش شده است فعال شدن مسیر پیام رسانی IGF-1/Akt/mTOR به شدت ورزش بستگی دارد و تمرین تناوبی شدید پاسخ بزرگتری نسبت به تمرین با شدت متوسط ایجاد می‌کند، به طوری‌که میزان ۱۴ درصد برای HIIT و ۵ درصد برای تمرین با شدت متوسط گزارش شده است (۲۶). در خصوص اثرگذاری تمرین تناوبی شدید عنوان شده، ریکاوری فعال بین وهله‌های شدید بر بهبود پاسخ و تنظیم بیان ژن موثر است (۱۸)؛ زیرا استرس سلولی پس از اجرای این تمرینات کاهش می‌یابد (۱۴). همچنین اجرای متناوب با شدت بالا در حین انجام تمرین تولید فاکتور القاء هایپوکسی را افزایش می‌دهد (۲۸). پس از آن با آزاد سازی پروتئین‌های شوک گرمائی از ساختار میوسیت در برابر حمله رادیکال‌های آزاد محافظت می‌شود (۱۵). از طرف دیگر ایجاد تنش برشی در حین انقباضات مکرر موجب افزایش در تولید و رهایش متسع کننده‌های عروقی شده، خون و اکسیژن‌رسانی به میوسیت و عضله فعال را افزایش می‌دهد (۲۸). همچنین با افزایش متابولیسم سلولی حین اجرای تمرین شدید به وسیله فعال‌سازی کلسیم درون سلولی نسبت تولید ATP به AMP را کاهش می‌دهد، زیرا آدنوزین به پروتئین فعال شده با آدنوزین منوفسفات کینازمتصل می‌شود و با تنظیم در اتوفاژی سلول از متاستاز تومور پیشگیری می‌کند (۲۹). همینطور استراحت فعال در اجرای تمرین متناوب نسبت به تمرین تداومی که به طور پیوسته اجرا می‌شود می‌تواند از افزایش پیوسته گرما و جریان خون در ناحیه مبتلا به تومور جلوگیری کرده، گسترش سلول را مهار می‌کند (۳۰). از دلایل تفاوت نتایج به دست آمده با یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر می‌توان به شدت، مدت و نوع تمرین، مقدار عضلات درگیر در تمرین (۳۰)، مدت زمان ابتلا به سرطان، نحوه القاء تومور و نیز نوع درمان اشاره کرد (۱۶).

نتیجه‌گیری

لازم به ذکر است، در تحقیق حاضر نحوه القاء تومور به وسیله تزریق ریز رده سلولی سرطان (MC4-L2) که رشد و تکثیر کندی دارد انجام شد، در تعیین شدت تمرین نیز به خستگی و عدم توانائی موش‌ها به دلیل القاء بیماری توجه شد. هرچند به دلیل کمبود بودجه پژوهش میسر نشد پروتئین ژن‌های مذکور اندازه گیری شود که از محدودیت‌های پژوهش حاضر بود. به طورکل نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد، احتمالا تمرین تناوبی شدید می‌تواند با کاهش در حجم تومور و افزایش در سنتز پروتئین IGF-1، ژن‌های AKT و m TORC1 در میوسیت عملکرد قلب را در موش‌های مبتلا به سرطان پستان بهبود بخشد. با این حال برای بدست آوردن نتایج قطعی تر در این زمینه به مطالعات گسترده تر نیاز است.

References

1. Gaya A, Ashford R. Cardiac complications of radiation therapy. Clin Oncol. 2005;17(3):153-9.
2. Musgrove EA, Sutherland RL. Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer. Nature Rev Cancer. 2009;9(9):631.
3. Dawson K, Aflaki M, Nattel S. Role of the Wnt-Frizzled system in cardiac pathophysiology: a rapidly developing, poorly understood area with enormous potential. J Physiol. 2013;591(6):1409-32.
4. Baglietto L, English DR, Hopper JL, Morris HA, Tilley WD, Giles GG. Circulating insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and the risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Prev Biomarkers. 2007;16(4):763-8.
5. Saunders L, Verdin E. Sirtuins: critical regulators at the crossroads between cancer and aging.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]

Oncogene. 2007;26(37):5489.
6. Schmitz HH, Michael DL, Neumann JC, Webster M, Zemenek E, Jerome R. Method of making a health food product containing anti-oxidants. Google Patents; 1998.
7. Shrivastav A, Bruce MC, Jaksic D, Bader T, Seekallu S, Penner C, et al. The mechanistic target for rapamycin pathway is related to the phosphorylation score for estrogen receptor-α in human breast tumors in vivo. Breast Cancer Res. 2014;16(3):R49.
8. Yang SB, Lee HY, Young DM, Tien AC, Rowson-Baldwin A, Shu YY, et al. Rapamycin induces glucose intolerance in mice by reducing islet mass, insulin content, and insulin sensitivity. J Mol Med. 2012;90(5):575-85.
9. Sciarretta S, Forte M, Frati G, Sadoshima J. New insights into the role of mTOR signaling in the cardiovascular system. Circul Res. 2018;122(3):489-505.
10. Galantino ML, Stout NL. Exercise interventions for upper limb dysfunction due to breast cancer treatment. Physic Ther. 2013;93(10):1291-7.
11. Evans ES, Battaglini CL, Groff DG, Hackney A. Aerobic exercise intensity in breast cancer patients: a preliminary investigation. Integr Cancer Ther. 2009;8(2):139-47.
12. Zielinski MR, Muenchow M, Wallig MA, Horn PL, Woods JA. Exercise delays allogeneic tumor growth and reduces intratumoral inflammation and vascularization. J Appl Physiol. 2004;96(6):2249-56.
13. Colbert LH, Westerlind KC, Perkins SN, Haines DC, Berrigan D, Donehower LA, et al. Exercise effects on tumorigenesis in a p53-deficient mouse model of breast cancer. Med Sci Sports Exerc. 2009;41(8):1597.
14. Bacurau AVN, Belmonte MA, Navarro F, Moraes MR, Pontes Jr FL, Pesquero JL, et al. Effect of a high-intensity exercise training on the metabolism and function of macrophages and lymphocytes of walker 256 tumor–bearing rats. Experim Biol Med. 2007;232(10):1289-99.
15. Milne KJ, Wolff S, Noble EG. Myocardial accumulation and localization of the inducible 70-kDa heat shock protein, Hsp70, following exercise. J Appl Physiol. 2012;113(6):853-60.
16. De Luca V, Minganti C, Borrione P, Grazioli E, Cerulli C, Guerra E, et al. Effects of concurrent aerobic and strength training on breast cancer survivors: a pilot study. Public Health. 2016;136:126-32.
17. Jensen MM, Jørgensen JT, Binderup T, Kjær A. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microCT is more accurate and reproducible than determined by 18 F-FDG-microPET or external caliper. BMC Med Imag. 2008;8(1):16.
18. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. European J Cardiovasc Prev Rehabil. 2007;14(6):753-60.
19. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. J Strength Cond Res. 2007;21(3):751.
20. Laursen PB, Jenkins DG. The scientific basis for high-intensity interval training. Sports Med. 2002;32(1):53-73.
21. Agostini D, Natalucci V, Baldelli G, De Santi M, Donati Zeppa S, Vallorani L, et al. New insights into the role of exercise in inhibiting mTOR signaling in triple-negative breast cancer. Oxid Med Cell Long. 2018;2018.
22. Jelleyman C, Yates T, O'Donovan G, Gray LJ, King JA, Khunti K, et al. The effects of high-intensity interval training on glucose regulation and insulin resistance: a meta-analysis. Obes Rev. 2015;16(11):942-61.
23. Medeiros A, Oliveira EMd, Gianolla R, Casarini DE, Negrão C, Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. Brazil J Med Biol Res. 2004;37(12):1909-17.
24. McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. Clin Experim Pharmacol Physiol. 2007;34(4):255-62.
25. DeBosch B, Treskov I, Lupu TS, Weinheimer C, Kovacs A, Courtois M, et al. Akt1 is required for physiological cardiac growth. Circulation. 2006;113:2097-104.
26. Kemi OJ,Ceci M,Wisloff U,Grimaldi S, Gallo P,Smith GL, et al. Activation or inactivation of cardiac Akt/mTOR signaling diverges physiological from pathological hypertrophy. J Cell Physiol. 2008;214(2):316-21.
27. Irwin ML, Varma K, Alvarez-Reeves M,Cadmus L, Wiley A, Chung GG, et al. Randomized controlled trial of exercise on insulin and IGFs inbreast cancer survivors: The Yale Exercise andSurvivorship Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2009;18(1):306-13.
28. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. J Physiol. 2012;590(5):1077-84.
29. Egan D, Kim J, Shaw RJ, Guan KL. The autophagy initiating kinase ULK1 is regulated via opposing phosphorylation by AMPK and mTOR. Autophagy. 2011;7(6):643-4.
30. Liu X, Chu KM. E-cadherin and gastric cancer: cause, consequence, and applications. BioMed Res Int. 2014;2014.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-06]