پژوهش‌نامهٔ فیزیولوژی ورزشی کاربردی سال یازدهم/شمارهٔ بیست و دوم/پاییز و زمستان ۱۳۹٤

دریافت:۹۳/۰۹/۲۷ پذیرش:۹۴/۰۱/۲۴ ص ص: ۹۸-۸۷

بررسی اثر پیشگیرانه و کمک درمانی تمرین هوازی بر نسبت رشد تومور، E2 و بیان miR-206 و ERα بافت تومور سرطان پستان

دکتر زهرا میرآخوری[۱]، دکتر محمدرضا کردی[۲]، دکتر شعبان علیزاده[۳]، دکتر عباسعلی گایینی[۴]، دکتر حمیدآقاعلی نژاد[۵]، لیلا انوشه[۶]، دکتر صادق امانی شلمزاری[۷]، دکتر اشرف امینی[۸]

چکیده

سابقه و هدف: سرطان پستان شایعترین نوع سرطان در زنان است. در این پژوهش، اثر تمرین هوازی بر روند تنظیمی حلقه‌ی بازخوردی ERα–miR-206–استرادیول در سرطان پستان، بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: تعداد۴۰ سر موش balb c ماده (چهار تا پنج هفته ایی، میانگین وزن بدن ۱۵-۱۴ گرم) به‌شکل تصادفی به چهارگروه ۱۰ تایی تمرین–سرطان–تمرین (TCT)، تمرین–سرطان–استراحت (TCR)، استراحت–سرطان–تمرین (RCT) و استراحت–سرطان–استراحت (RCR) تقسیم شدند. پس از اتمام ۸ هفته تمرین هوازی روی نوارگردان، همه‌ی موش‌ها با تزریق زیر جلدی یک میلیون سلول سرطانی MC4-L2، سرطانی شدند و مرحله‌ی دوم تمرینات آغاز شد. موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، قربانی شدند و نمونه‌های خونی و بافتی برداشته شد. میزان بیان ژن miR-206 و ERα بافت تومور به روش Real time–PCR و استرادیول پلاسما با روش الایزا اندازه گیری شد.

یافته‌ها: گروه‌هایی که پس از سرطانی شدن، تمرین هوازی داشتند، در مقایسه با دیگر گروه‌ها، سطوح استرادیول پلاسما، بیان ژن ERα و نسبت رشد تومور کاهش معنادار و بیان ژن miR-206 با افزایش معنادار همراه بود (p=۰/۰۰۰۱). تفاوت معناداری بین گروه TCR و RCT در متغیرهای پژوهش مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی با اثر افزایشی بر miR-206 و اثر کاهشی بر استرادیول پلاسما و ERα موجب کاهش نسبت رشد تومور سرطان پستان می شود.

کلید واژه: سرطان پستان، تمرین هوازی، miR-206، استرادیول

۱ استادیارفیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی دانشگاه صنعتی امیر کبیر، تهران، ایران Email: zmirakhori@gmail.com
۲ دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران،ایران
۳ استادیار پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
۴ استادفیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران، ایران
۵ دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۶ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران، ایران
۷ استادیارفیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات ، تهران، ایران
۸ استادیار فیزیولوژی ورزش، دانشگاه صنعتی امیر کبیر، تهران، ایران

مقدمه

سرطان پستان مهم‌ترین عامل نگران کننده سلامتی در زنان محسوب می‌شود، زیرا شایع ترین نوع سرطان در زنان است و در کشورهای غربی در حدود یک سوم از کل سرطان‌های زنان را تشکیل می‌دهد(۱،۲). سرطان پستان چندین زیر نوع مولکولی اصلی دارد که در یک تقسیم‌بندی آن‌ها را به سرطان‌های وابسته و غیر وابسته به گیرنده‌ی استروژن، طبقه‌بندی می‌کنند. اکثر سرطان‌های پستان، تومورهای اپی‌تلیالی هستند که از سلول‌های آستر مجراها و یا لوبول‌های پستان ناشی می‌شوند و به دلیل بیان ژن گیرنده آلفای استروژن در اصطلاح، گیرنده-ی آلفای استروژن (ER α)[1] مثبت نامیده می‌شوند (۳). طی دهه گذشته به موضوع فعالیت ورزشی به عنوان روش پیشگیرانه (۴) و کمک درمانی موثر برای حفظ و یا بهبود کیفیت زندگی بیماران مبتلا به سرطان پستان، از طرف پزشکان، فیزیولوژیست‌های ورزشی و بیماران توجه زیادی شده است (۵). پژوهش‌های فراگیر اخیر نشان داده‌اند، به دنبال تشخیص سرطان پستان، تمرین هوازی می‌تواند با کاهش عوارض سرطان و در نهایت با کاهش مرگ و میر همراه باشد (۵). فعالیت بدنی بسته به شدت فعالیت، می‌تواند باعث تسریع و یا جلوگیری از پیشرفت سرطان پستان در جوندگان شود (۵). همچنین تمرین‌های هوازی با کاهش حجم تومور در موش‌های مبتلا به سرطان پستان همراه بوده است. بتوف[2](۲۰۱۳) تاثیر تمرین هوازی را به عنوان یک روش درمانی، در موش‌های مبتلا به سرطان پستان بررسی کرد(۶). نتایج نشان داد، نسبت رشد تومور در گروه‌هایی که پس از سرطانی شدن فعالیت ورزشی انجام داده بودند، نسبت به سایر گروه‌ها تا دو برابر کمتر بود. با این که این نتایج نشان می‌دهد، فعالیت ورزشی هوازی می‌تواند خاصیت ضد توموری برای بیماران مبتلا به سرطان پستان داشته باشد، ولی در این مطالعه نیز مانند پژوهش‌های دیگر، جزییات بیشتر مورد بررسی قرار نگرفته است.

در پاسخ به تحریک خارجی، بیان ژنی به وسیله‌ی سازوکارهای متفاوتی نظیر، خاموش شدن بیان ژن توسط miRNA[3] می‌تواند تنظیم شود (۷, ۸). بیش از ۵۰ درصد ژن‌های miRNA در نواحی ژنومیک همراه سرطان قرار گرفته‌اند (۹)، بنابراین پیشنهاد شده miRNAs نقش مهمی در پاتوژنز انواع سرطان در انسان بازی می‌کند. در این میان، miR-206[4]، رابطه نزدیکی با انواع سرطان‌ها دارد و با سرکوب بیان ژن گیرنده‌ی آلفا استروژن(ERα)[5] به عنوان سرکوب کننده تومور سرطان پستان عمل می‌کند (۱۰). miR-206 اساساً در عضله اسکلتی و عضله قلبی بیان می‌شود و تمایز عضله را افزایش می‌دهد و در سطوح پایین در دیگر بافت‌ها از جمله سلول‌های پستان و بافت توموری پستان (۱۰) نیز بیان می‌شود. miR-206 عضوی از خانواده miR-1 ویژه عضله است و در موقعیت کروزومی 6p12.2 قرار دارد. miR-206 دو جایگاه اتصالی درون ERα 3′UTR دارد و بنابراین بیان پروتئین و ERα mRNA در سلول‌های سرطان پستان را تنظیم کاهشی می‌کند (۱۰). وجود حلقه بازخورد منفی در مطالعات نشان داده است، miR-206 و ERα بیان یکدیگر را سرکوب می‌کنند (۱۰).

از طرف دیگر استروژن‌ها به عنوان عامل خطر اصلی برای توسعه سرطان پستان پذیرفته شده اند. یکی از عمده ترین استروژن‌های قابل بررسی، 17 بتا -استرادیول(استرادیول) است، چنان‌که غلظت بالای آن در سرم، یکی از

1 Estrogen receptor alpha
2 Betof
3 MicroRNA
4MicroRNA-206
5Estrogen Receptorα

نشانه‌های مهم سرطان پستان است (۱۱). چندین مطالعه اپیدمولوژیکی نشان دادند، استرادیول پلاسما، اندروژن-های آدرنال و سطوح تستسترون در زنان مبتلا به نئوپلاژیا، نسبت به افراد سالم بالاتر است و خطر ابتلا به سرطان پستان در زنانی که غلظت استرادیول بالایی دارند، بیشتر است (۱۱، ۱۲). استرادیول همانند سازی سلول را به‌وسیله اتصال به گیرنده‌های استروژن α و β افزایش می‌دهد. همچنین، استرادیول بیان ژن در سطح رونویسی را به‌وسیله عمل نمودن به‌عنوان لیگاند برای گیرنده آلفای استروژن(ERα) و گیرنده بتای استروژن(ERβ) تنظیم می‌کند (۱۳) استرادیول mir-21 را القا می‌کند و هفت miRNA در سلول‌های سرطان پستان از جمله miR-206 را سرکوب می‌کند (۱۴). تمرین ورزشی آثار ضد سرطانی خود را تنها در سرطان های گیرنده استروژن مثبت اعمال می‌کند و هیچ اثری بر سرطان پستان ER منفی ندارد (۱) با توجه به این که برهم خوردن تعادل تنظیمی ER ، یکی از عوامل خطرزای ایجاد سرطان پستان و وخیم شدن آن می باشد، به نظر می رسد اثر مثبت ورزش در سرطان پستان وابسته به گیرنده استروژن، ناشی از اثر آن بر تنظیم بیان ژن ERα می باشد(۱) از این رو با توجه به اثر تنظیمی مستقیم استرادیول و miR-206 بر بیان ژن ERα، به نظر می رسد، بررسی تغییرات ناشی از تمرین هوازی این عوامل، بتواند به چگونگی اثربخشی تمرین هوازی در سرطان پستان کمک کند. حال این سوال مطرح می شود که آیا فعالیت ورزشی می تواند میزان استرادیول پلاسما، بیان ژن miR-206 و بیان ژن گیرنده آلفای استروژن در بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان را در موش‌های مبتلا به سرطان پستان تغییر دهد و این که آیا می‌توان بخشی از خاصیت ضد توموری فعالیت ورزشی را به تاثیر آن بر میزان استرادیول پلاسما، بیان ژن های miR-206 و گیرنده آلفای استروژن نسبت داد.

روش شناسی

آزمودنی ها: تعداد ۴۰ سر موش balb c ماده(سن چهار تا پنج هفته، میانگین وزن ۱۵-۱۴ گرم) از موسسه پاستور خریداری شد و به حیوان خانه‌ی دانشگاه تهران منتقل شد. برای تطابق فیزیولوژیک موش ها، دوره ی ۱۲ ساعته‌ی تاریکی روشنایی رعایت گردید. دمای اتاق نیز بین ۲۲-۲۴ درجه سانتی گراد و رطوبت ۴۵ درصد حفظ شد. غذای حیوانات شامل آب و غذای معمول موش بود که به صورت آزاد و تا پایان پروتکل در دسترس موش‌ها قرار گرفت. پس از یک هفته آشنا سازی با محیط و تمرین آشناسازی روی نواگردان، موش ها بر طبق جدول یک به شکل تصادفی به چهارگروه ۱۰ تایی تمرین-سرطان-تمرین(TCT)[1]، تمرین-سرطان-استراحت(TCR)[2]، استراحت-سرطان-تمرین(RCT)[3] و استراحت-سرطان-استراحت(RCR)[4] تقسیم شدند و دو گروه اول به مدت ۸ هفته به تمرین پرداختند (جدول ۱).

جدول۱. پروتکل تمرین هوازی در مراحل قبل و بعد از سرطانی شدن آزمودنی ها

دوره تمرین	گروه‌ها	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)	تکرار (روز در هفته)
یک هفته آشنا سازی	همه‌ی - گروه‌ها	۶-۱۰	۲۰	۵
دو هفته‌ی اول	TCT	۱۴	۳۰	۵

1 Training-Cancer-Ttaining
2 Trainig-Cancer-Rest
3 Rest-Cancer-Training
4 Rest-Cancer-Rest

دوره تمرین	گروه‌ها	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)	تکرار (روز در هفته)
	TCR	۱۴	۳۰	۵
دو هفته‌ی دوم	TCT	۱۶	۳۵	۵
	TCR	۱۶	۳۵	۵
دو هفته‌ی سوم	TCT	۱۸	۳۵	۵
	TCR	۱۸	۳۵	۵
دو هفته‌ی چهارم	TCT	۲۰	۴۰	۵
	TCR	۲۰	۴۰	۵
پس از سرطانی شدن				
دو هفته‌ی اول	TCT	۱۴	۲۵	۵
	RCT	۱۴	۲۵	۵
دو هفته‌ی دوم	TCT	۱۶	۳۰	۵
	RCT	۱۶	۳۰	۵
دو هفته‌ی سوم	TCT	۱۸	۳۰	۵
	RCT	۱۸	۳۰	۵

گروه تمرین –سرطان– تمرین(TCT)، به مدت ۸ هفته شروع به فعالیت کردند و سپس با تزریق زیر جلدی سلول‌های سرطانیMC4-L2 به سرطان مبتلا شده و پس از آن به مدت شش هفته پروتکل ورزشی را اجراکردند. گروه تمرین–سرطان– استراحت(TCR) ، به مدت هشت هفته شروع به فعالیت کردند و پس از سرطانی شدن به زندگی طبیعی خود همراه با حمل تومور ادامه دادند. گروه استراحت–سرطان–تمرین(RCT) ، به مدت هشت هفته زندگی طبیعی داشتند و سپس با تزریق زیر جلدی سلول‌های سرطانی MC4-L2 به سرطان مبتلا شدند و پس از آن به فعالیت پرداختند. گروه استراحت–سرطان–استراحت(RCR) قبل و بعد از ابتلا به سرطان به زندگی طبیعی خود ادامه می‌دهند.

کشت سلول: سلول‌های MC4-L2 در فلاسک T75 در محیط DMEM/F-12 با ۱۵ میلی مول بافر HEPES، گلوتامین، پنی سلین 100 µg/ml، استراپتومایسن 100 µg/ml و FBS ۱۰ درصد مطابق گزارش امانی و همکاران (۱۳۹۲)(۳) و لاناری و همکاران (۲۰۰۱)(۱۵) کشت داده شدند. پس از پرکردن ۹۰ درصد سطح فلاسک بوسیله سلول‌ها، مایع رویی برداشت شد و پس از شسستشو با PBS، در مرحله بعد با آنزیم تریپسین ۰/۰۲۵ از کف پلیت سلول‌ها جدا شد و پس از خنثی سازی آنزیم با محیط حاوی FBS ۱۰٪ همه محتویات فلاکس، داخل لوله فالکون ریخته شد و آن را در دور ۱۲۰۰ به مدت ۳–۵ دقیقه سانتریفیوژ شد، در مرحله بعد، مایع روئی برداشته و پلاک سلولی در داخل محیط حاوی FBS 10% حل شد. برای تعیین زنده ماندن و شمارش سلولی به ترتیب از تریپان‌بلو و لام هماسیتومتر استفاده شد.

تزریق سلول و نحوه ایجاد تومور: در ابتدا سلول‌های مورد نظر در محیط آزمایشگاهی به منظور دستیابی به میزان معینی از سلول کشت داده شدند و پس از آن که تعداد سلول به اندازه مورد نیاز رسید، سوسپانسیون سلولی با تراکم ۱۰ میلیون در هر میلی لیتر بافر PBS تهیه شد. سپس به هر موش ماده یک میلیون سلول به صورت زیر جلدی به ناحیه بالای ران سمت راست تزریق شد. هر چهار گروه پس از هشت هفته ی اول با تزریق سلول های سرطان پستان، سرطانی شدند و پس از ۱۰ روز مرحله ی دوم تمرینات آغاز شد.

پروتکل تمرین: برای دو گروه اول پیش از توموری کردن، هشت هفته تمرین در نظر گرفته شد که مطابق جدول یک انجام گرفت. پس از ایجاد سرطان، تمرینات به مدت ۶ هفته ادامه یافت. تمرینات در هفته‌ی اول با سرعت ۱۴ متر در دقیقه شروع و در نهایت در دو هفته ی آخر قبل از سرطانی شدن به سرعت ۲۰ متر در دقیقه و در دو هفته ی آخر پس از سرطانی شدن به ۱۶ متر در دقیقه رسید(۵۵–۷۰ درصد Vo2max) (۳).

اندازه‌گیری حجم تومور: ۱۰ روز پس از تزریق سلول‌های سرطانی با پیدایش تومور ، هر هفته حجم تومور محاسبه شد. برای اندازه‌گیری حجم تومور از فرمول جونز و همکاران[1](۲۰۱۰) [$V=1/2(L^2\times W)$] استفاده شد(۱۶). لذا حجم تومور در دو بعد اندازه‌گیری شد. بزرگترین بعد تومور به عنوان طول (L) تومور در نظر گرفته شد و بعد دیگر (در زاویه ۹۰ درجه) به عنوان عرض (W) در نظر گرفته شد. حجم تومور در هر چهار گروه اندازه-گیری شد.

هموژنایز بافت تومور: در پایان پروتکل و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، موش‌ها برای سنجش متغیرهای پژوهشی قربانی شدند. به منظور اندازه گیری سطوح متغیرها، بلافاصله بافت تومور برداشته شد و قسمت مرکزی آن (قسمت نکروز) حذف گردید و قسمت رویی تومور در نیتروژن مایع فریز گردید و در دمای $^{\circ}C$ ۷۰– نگهداری شد. در آزمایشگاه حدود ۵۰–۱۰۰ میلی گرم بافت تومور به همراه یک سی سی ترایزول در لوله هموژن دستی ریخته شد و بافت هموژن گردید. سپس مایع رویی برای استخراج RNA به لوله جدید منتقل شد.

استخراج RNA: مراحل استخراج RNA تام براساس پروتکل ترایزول با دقت اجرا شد، با این تفاوت که برای استخراج mir-206 پس از اضافه نمودن ایزوپروپانول، رونشین به مدت یک شبانه روز در دمای ۲۰– نگهداری شد و سپس مراحل بعدی استخراج به ترتیب انجام گرفت. برای سنتز cDNA از کیت‌های مخصوص استفاده شد. برای سنتز cDNA ژن ERα از کیت استخراج کیاژن ۲۰۵۳۱۱ و برای ساخت mir-206 cDNA از کیت STRATAGENE با CAT No:600583 استفاده گردید. مراحل سنتز cDNA مطابق با پروتکل کیت‌ها انجام شد.

Real time – PCR: در ابتدا با استفاده از آزمایش سریال غلظت، میزان غلظت بهینه cDNA و پرایمرهای مربوط به هر ژن به‌طور مجزا برای هرکدام مشخص شد. برنامه ی Real time – PCR بر روی دستگاه کوربت برای mir-206 شامل $^{\circ}$۹۵ به‌مدت ۱۰ دقیقه و ۴۵ سیکل $^{\circ}$۹۵ به‌مدت ۱۰ ثانیه، $^{\circ}$۶۰ به‌مدت ۱۵ ثانیه و $^{\circ}$۷۲ به‌مدت ۲۰ ثانیه و برای ژن ERα شامل $^{\circ}$۹۵ به‌مدت ۱۰ دقیقه و ۴۰ سیکل $^{\circ}$۹۵ به‌مدت ۱۵ ثانیه، $^{\circ}$۶۰ به‌مدت یک دقیقه بود. از U6 و GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده شد. پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ ارائه شده است.

1 Jones LW, et al (2010).

جدول ۲. پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

نام ژن	*توالی پرایمر*
miR-206	F: 5´-UGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGG-3´
	Universal
ER-α	F: 5´-CCTCCCGCCTTCTACAGGT -3´
	R: 5´-CACACGGCACAGTAGCGAG-3´
U6	F: 5´-GCGCGTCGTGAGGGTTC-3´
	R: 5´-GTGCAGGGTCCGAGGT
GAPDH	F: 5´-TCAACAGCAACTCCCACTCTTCC-3´
	R: 5´-ACCCTGTTGCTGTAGCCGTATTC-3´

اندازه گیری استردیول پلاسما: با استفاده از کیت cayman chemical company با کدنامبر ۵۸۲۲۵۱ استرادیول سرم موشها اندازه گیری شد.

روش‌های آماری: از آزمون t مستقل برای مقایسه حجم تومور گروه‌ها پس از پیدایش تومور و قبل از شروع تمرینات در هفته اول استفاده شد. نتایج به دست آمده از روش کمی Real-Time PCR ابتدا با استفاده از روش ۲–ΔΔCT محاسبه شد و سپس داده‌های حاصل به منظور تجزیه و تحلیل آماری و میزان بیان ژن‌های مورد نظر با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه وپس از مشخص شدن اختلاف بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. همچنین از نرم افزا EXCEL برای ترسیم نمودارها استفاده شد.

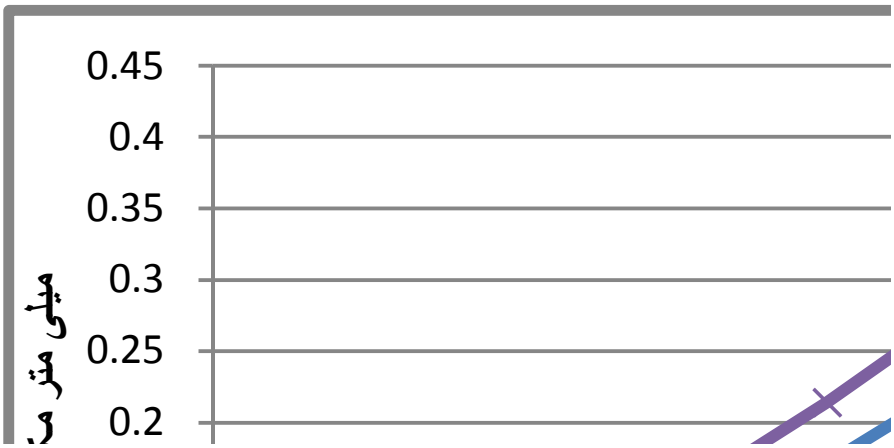
یافته‌ها

حجم تومور در طول شش هفته، در همه‌ی گروه‌ها افزایش یافت (شکل ۱). با این حال، دو گروه RCT و TCT با کاهش شیب رشد حجم تومور همراه بودند و سطوح اولیه‌ی حجم تومور دو گروه TCR و TCT به طور معناداری پایین‌تر از دو گروه دیگر بود(p=۰/۰۰۰۱). تغییرات سطوح استرادیول در جدول ۳ ارائه شده است(جدول ۳). نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه، تغییرات معنادار بیان ژن‌های mir-206 و ERα بافت تومور و استرادیول پلاسما و حجم تومور در بین چهار گروه را نشان داد(P=۰/۰۰۰۱). آزمون تعقیبی Tukey نشان داد، سطوح استرادیول پلاسما و miR-206 بافت تومور در گروه TCT و RCT اختلاف معناداری با گروه‌های دیگر داشت (p=۰/۰۰۰۱). بیان ژن ERα در گروه TCT با گروه‌های RCR و TCR (P=۰/۰۱) و بین دو گروه RCT و RCR (p=۰/۰۰۱) تفاوت معنادار داشت، ولی بین دو گروه TCT و RCT این اختلاف به لحاظ آماری معنادار نبود. اختلاف معناداری بین دو گروه RCR و TCR در متغیرهای اندازه‌گیری شده مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به داده‌های حاصل از حجم تومور، پژوهش حاضر نشان داد، فعالیت ورزشی هوازی می‌تواند روند پیشروی سرطان پستان را کاهش دهد و با توجه به افزایش بیان ژن mir-206 و کاهش بیان ژن ERα و همچنین کاهش

سطوح استرادیول پلاسما، به نظر می‌رسد حلقه‌ی ارتباطی بین این سه عامل تنظیم کننده، می‌تواند در کاهش مشاهده شده در نسبت رشد تومور در طول شش هفته تمرین هوازی نقش داشته باشد.



شکل ۱: روند رشد تومور در چهار گروه پژوهش

جدول ۳. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای سطوح استرادیول پلاسما (pg/ml).

گروه	گروه	میانگین اختلاف	خطای استاندارد	ارزش P
TCT	TCR	-۴۰/۲۵۷۴	۲/۸۸۳۱	۰/۰۰۰۱*
	RCT	-۳۱/۷۲۲۵	۲/۸۸۳۱	۰/۰۸۲
	RCR	-۴۶/۰۵۹۷۰	۲/۸۸۳۱	۰/۰۰۰۱*
TCR	RCT	۸/۵۳۴۹	۲/۸۸۳۱	۰/۰۳*
	RCR	-۵/۸۰۲۲	۲/۸۸۳۱	۰/۲۰۸
RCT	RCR	-۱۴/۳۳۷۱	۲/۸۸۳۱	۰/۰۰۰۱*

سطح معنی‌داری، ۰/۰۵ می‌باشد.

فیریدنریپ و اورن استین[1](۲۰۰۲)، بیش از ۲۵۰ پژوهش اپیدمیولوژیک در مورد رابطه ی بین فعالیت جسمانی و پیشگیری از سرطان را آنالیز کردند. براین اساس آن‌ها نتیجه گرفتند، فعالیت جسمانی به طور متقاعدکننده ایی با کاهش خطر پیشرفت سرطان‌های پستان و کولون مرتبط است (۱۶). در سال‌های اخیر، در کشورهای پیشرفته حوزه‌های جدیدی در رابطه با ورزش شکل گرفته است که با رویکرد درمانی به ورزش نگاه می‌کنند. به‌طور مثال تحقیقات نشان داده‌اند، تمرینات ورزشی منظم می‌تواند منجر به کاهش حجم تومور گردد(۳, ۱۷-۱۹)، نتیجه‌ای که در پژوهش حاضر نیز تائید شد، به‌گونه‌ایی‌که نسبت رشد تومور به‌طور معناداری در گروه‌هایی که پس از

1 Friedenreich & Orenstein

سرطانی شدن، فعالیت ورزشی داشتند، پایین‌تر بود. علاوه‌براین، داده‌های حاصل از حجم تومور، نشان داد، دو گروه TCR و TCT در هفته‌ی اول پس از سرطانی شدن، به‌طور معناداری دارای حجم تومور پایین‌تری بودند که نشان دهنده‌ی اثر پیشگیرانه فعالیت ورزشی بر سرطان پستان است. همراستا با پژوهش حاضر، نتایج پژوهش بتوف (۲۰۱۳) نیز نشان داد، تمرین هوازی به عنوان یک روش درمانی، می‌تواند رشد تومور را در گروه‌هایی که پس از سرطانی شدن ، فعالیت ورزشی انجام داده بودند نسبت به سایر گروه‌ها تا دو برابر کاهش دهد، هر چند در این پژوهش علت آن ذکر نشد (۶). زینسکی و همکاران[1](۲۰۰۴) نشان دادند، فعالیت شدید بر رشد تومور با اثرگذاری بر ریز محیط تومور اثرگذاراست و منجر به تاخیر در رشد تومور می‌شود (۱۸). ورما و همکاران[2](۲۰۰۹) کاهش حجم تومور ناشی از فعالیت ورزشی را با کاهش آنژیوژنز، کاهش بیان ژن VEGF، مقادیر اریتروسیت، لاکتات ریزمحیط تومور و افزایش اکسیژن و نیتریک اکساید، مرتبط می‌دانند (۲۰). مورفی و همکاران(۲۰۱۱) نشان دادند، تمرین اجباری نوارگردان، موجب کاهش معنادار تعداد و حجم تومور در موش‌های مبتلا به سرطان پستان می‌شود (۱۹).

استروژن به عنوان عامل خطر اصلی برای توسعه سرطان پستان پذیرفته شده است. همان‌گونه‌که ذکر شد، زنانی که دارای سطوح بالاتر استرادیول هستند با خطر ابتلا به سرطان پستان بیشتری همراه هستند و سطوح استرادیول در زنان مبتلا به سرطان بالاتر است (۱۱، ۱۲). استرادیول، از طریق اتصال به گیرنده‌های استروژن α و β، مضاعف سازی سلول را افزایش می‌دهد و می تواند در تنظیم بیان ژن miRNA در سلول‌های سرطان پستان نقش داشته باشد، به‌گونه‌ای‌که می‌تواند بیان ژن miR-206 در سلول‌های MCF-7 [3]را سرکوب کند (۲۱). همراستا با مطالعات ورزشی دیگر (۲۲) پژوهش حاضر نیز تغییرات کاهشی معنادار استرادیول سرم را در نتیجه‌ی پروتکل ورزشی نشان داد، به‌گونه‌ایی که در دو گروهی که پس از سرطانی شدن، تمرین هوازی انجام دادند، استرادیول به‌گونه معناداری نسبت به دو گروه دیگر، کاهش یافت. مک تیرنان و همکاران[4] (۲۰۰۴) نشان دادند، بیشترین کاهش در غلظت سرمی استرادیول زنان تمرین کرده مربوط به زنانی بود که چربی بدن آن‌ها بیشتر از دو درصد کاهش داشت (۲۳). از آن‌جاکه استرادیول مثل سایر استروئیدهای جنسی از کلسترول ساخته می‌شود، ممکن است برنامه تمرینی با اثرگذاری در میزان کلسترول در کاهش استرادیول سرم نقش داشته باشد یا در متابولیسم استرادیول و در نتیجه کاهش سطح سرمی آن موثر باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد، سطوح استرادیول بین دو گروه RCR و TCR در پایان پروتکل اجرایی، اختلاف معناداری وجود نداشت که می‌تواند در نتیجه‌ی از بین رفتن سازگاری‌های ناشی از تمرین هوازی پس از حدود هشت هفته بی‌تمرینی باشد.

پژوهش حاضر نشان داد، میزان بیان ژن ERα در گروه TCT نسبت به دیگر گروه‌ها و بین دوگروه RCT و RCR به‌طور معناداری کاهش یافته است. اختلال در تنظیم بیان ژن ERα، نقطه مشترک اکثر سرطان‌های پستان انسان است. با توجه به بیان ژن ERα در حدود ۶۰ درصد سرطان‌های پستان، کاهش ERα می‌تواند پیامدهایی برای درمان و تشخیص سرطان پستان داشته باشد. نتایج مطالعات حیوانی که با ناک‌اوت گیرنده استروژن آلفا و بتا همراه بوند، نشان داد اثرات تکثیری استروژن اساساً به‌وسیله ERα میانجی می‌شود (۲۴). ERα به عنوان یک محصول انکوژن فعال شده با لیگاند در بافت‌های تناسلی عمل می‌کند و به‌راستی بیش بیانی

1 Zielinski MR, et al (2004)
2 Verma VK, et al (2009)
3 Michigan Cancer Foundation - 7
4 McTiernan A, et al (2004)

ژن ERα با خطر بالاتر برای سرطان‌های رحم و پستان همراه است (۱۱, ۲۵). با توجه به اثر کاهشی تمرین هوازی بر گیرنده ی استروژن و نسبت رشد تومور، پژوهش حاضر نیز همراستا با پژوهش های پیشین، اثر مثبت تمرین هوازی بر سرطان پستان ER مثبت را تایید می کند(۱). بیان ژن ERα و فعالیت آن به‌وسیله سازوکارهای متعددی تنظیم می‌شود. یک سازوکار برای خاموشی این ژن به وسیله miRNA شکل می‌گیرد. miRNAs طبقه جدیدی از مولکول‌های تنظیمی هستندکه بیان ژن را در سطح پیش و پس ترجمه‌ای تنظیم می‌کنند.

افزایش مرگ سلولی و کاهش تکثیر سلولی در سلول‌های سرطان پستان که در معرض miR-206 قرار گرفتند، miR-206 را به عنوان عامل سرکوب کننده‌ی سرطان معرفی می کند (۲۱). mir-206 در بافت سرطان پستان ERα مثبت، تنظیم کاهشی دارد (۲۵) و بیان ژن ERα را سرکوب و از رشد سرطان سینه انسان MCF-7 پیشگیری می‌کند (۲۶). آدامز و همکارن[1](۲۰۰۷) نشان دادند، miR-206 با اتصال به ERα mRNA 3′UTR از ترجمه ERα بازداری می‌کند، درحالی‌که آگونیست ERα بیان ژن miR-206 را بلوک می‌کند (۱۰). علاوه‌براین، بیش بیانی ژن miR-206 می‌تواند اهداف استرادیول را در سلول‌هایMCF-7 سرکوب کند. miR-206 می‌تواند بیان ژن ESR1 [2](۲۶)، SRC-1 و SRC-3[3] درونزا(۲۱)، ERα و Met [4](۲۷) را که اهداف استرادیول در بافت پستان می‌باشند، سرکوب کند. هم‌چنین، miR-206 به‌طور غیرمستقیم FOXO3[5] و اهداف رونویسی مستقیم آن یعنی BIM[6] را تحریک می‌کند (۲۷). FOXO3 و اهداف آن از عوامل رونویسی موثر در فرایند آپوپتوز هستند و بنابراین پتانسیل miR-206 در آپوپتوز (۱۰) سلول تومور را نشان می‌دهند. در مطالعه حاضر نشان داده شد، فعالیت ورزشی هوازی به‌طور معناداری موجب افزایش بیان ژن miR-206 می‌شود. به نظر می‌رسد miR-206 با هدف قرار دادن ژن‌های حساس به استروژن، اهداف ژنی استرادیول را سرکوب می‌کند و موجب کاهش کلی در تکثیر سلولی در سلول‌های ER مثبت می‌شود. هرچند، اصلی‌ترین هدف miR-206 mRNA گیرنده استروژن است (۲۷).

بنابراین، فعالیت ورزشی منظم از یک طرف با کاهش تولید استرادیول و از طرف دیگر با افزایش miR-206 و درنتیجه، سرکوب اهداف زیر دست استرادیول، در کاهش رشد سلول‌های سرطانی درگیر است. برآیند این تغییرات مسلماً کاهش رشد تومور و یا تاخیر در رشد تومور می‌باشد. با توجه به مطالب ذکر شده مشخص است ورزش اثرات مفیدی بر پیشگیری و درمان سرطان پستان و یا بیماری‌های ثانویه همراه با سرطان دارد. اما تاکنون پژوهش‌های اندکی سازوکارهای مولکولی و سلولی اثرات مفید ورزش بر بافت توموری سرطان پستان را بررسی کرده‌اند و اصولاً مسیرهای پیام رسانی و سازوکارهای اثربخش ورزش در بهبود سرطان مشخص نبوده‌اند. به نظر پژوهشگران، تمرین‌های ورزشی با اثر افزایشی در بیان ژن miR-206 و اثر کاهشی بر بیان ژن ERα و استرادیول پلاسما در موش‌های مبتلا به سرطان پستان وابسته به هورمون، می‌تواند در بیان اثرات مثبت ورزش بر پیشگیری و درمان سرطان پستان در نظر گرفته شود. همچنین با توجه به اثر miR-206 بر ژن‌های پایین دست استرادیول و محدودیت مالی پژوهشگر برای اندازه‌گیری این ژن‌ها و اندازه‌گیری مقادیر پروتیینی ژن‌های

1 Adams BDD, et al (2007)
2 the human ER- gene
3 coactivator proteins steroid receptor coactivator
4 hepatocyte growth factor receptor
5 Forkhead box o3
6 BCL2-like 11 apoptosis facilitator

اندازه گیری شده در پژوهش حاضر، توصیه می‌شود، به‌منظور روشن‌تر شدن سازوکارهای سلولی اثر فعالیت ورزشی بنابراین سرطان پستان، پژوهش‌های بیشتری در این زمینه انجام گیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از رساله دکتری دو نفر از دانشجویان مقطع دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش دانشگاه تهران می‌باشد که با همکاری دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است که بدین وسیله از آن‌ها تقدیر و تشکر می‌شود. هم‌چنین، از دکتر لاناری اهدا کننده رده سلولی از موسسه پزشکی آرژانتین تشکر می‌گردد.

منابع

1. Ibrahim EMaAAH. 2011. Physical activity and survival after breast cancer diagnosis: meta-analysis of published studies. Medical oncology. 28(3):753-65.
2. Kruk J, Aboul-Enein HY. 2004. Psychological stress and the risk of breast cancer: a case–control study. Cancer Detection and prevention. 28(6):399-408.
3. amani-shalamzari s, Agha-Alinejad H, alizadeh s, shahbazi s, khatib zk, kazemi a, et al. 2014. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 17(4):231-6.
4. Sheppard.V. 2010. Vigorous exercise reduces breast cancer risk in African-American women. Third AACR Conference on The Science of Cancer Health Disparities. 20102010.
5. Na HK, Oliynyk S. 2011. Effects of physical activity on cancer prevention. Annals of the New York Academy of Sciences. 1229(1):176-83.
6. Betof AS, Dewhirst MW, Jones LW. 2013. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: a translational perspective. Brain, behavior, and immunity. 30:S75-S87.
7. Fernandes-Silva MM, Carvalho VO, Guimarães GV, Bacal F, Bocchi EA. 2012. Physical exercise and microRNAs: new frontiers in heart failure. Arquivos brasileiros de cardiologia. 98(5):459-66.
8. Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. 2004. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. Genome research. 14(10a):1902-10.
9. Calin GA, Croce CM. 2006. MicroRNA signatures in human cancers. Nature Reviews Cancer. 6(11):857-66.
10. Adams BD, Furneaux H, White BA. The micro-ribonucleic acid (miRNA) miR-206 targets the human estrogen receptor-α (ERα) and represses ERα messenger RNA and protein expression in breast cancer cell lines. Molecular endocrinology. 2007;21(5):1132-47.
11. Clemons M, Goss P. 2001. Estrogen and the risk of breast cancer. The New England Journal of Medicine. 344(4):276-85.
12. Travis RCK, Timothy J. 2003. Oestrogen exposure and breast cancer risk. Breast Cancer Research. 5(5):239-49.
13. Jordan VC, O'Malley BW. 2007. Selective estrogen-receptor modulators and antihormonal resistance in breast cancer. Journal of clinical oncology. 25(36):5815-24.

14. Bhat-Nakshatri P, Wang G, Collins NR, Thomson MJ, Geistlinger TR, Carroll JS, et al. 2009. Estradiol-regulated microRNAs control estradiol response in breast cancer cells. Nucleic acids research. 37(14):4850-61.
15. Lanari C, Lüthy I, Lamb CA, Fabris V, Pagano E, Helguero LA, et al. 2001. Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: in vivo and in vitro effects of estrogens and progestins. Cancer research. 61(1):293-302.
16. Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, Kothadia SM, Keir ST, Freedland SJ, et al. 2010. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. Journal of Applied Physiology. 108(2):343-8.
17. Toufighighi A, Agha Alinejad H, Zoheyr MH, Keyvani F, Ghasemi A. 2010. effect of continuous aerobic exercise on the rate of IL-4, IFN-γ and proportion of CD4+/CDS+ in mice eith breast cancer tumor. Olympic. 17, 4 (48); 73 To 82.
18. Zielinski MR, Muenchow M, Wallig MA, Horn PL, Woods JA. Exercise delays allogeneic tumor growth and reduces intratumoral inflammation and vascularization. 2004. Journal of Applied Physiology. 96(6):2249-56.
19. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux T, McClellan J, Steiner J, Carmichael M, et al. 2011. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. Cytokine. 55(2):274-9.
20. Verma VK, Singh V, Singh MP, Singh SM. 2009. Effect of physical exercise on tumor growth regulating factors of tumor microenvironment: implications in exercise-dependent tumor growth retardation. Immunopharmacology and immunotoxicology. 31(2):274-82.
21. Adams BD, Cowee DM, White BA. 2009. The role of miR-206 in the epidermal growth factor (EGF) induced repression of estrogen receptor-α (ERα) signaling and a luminal phenotype in MCF-7 breast cancer cells. Molecular endocrinology. 23(8):1215-30.
22. Tartibian B, Zarneshan A. 2008. The effect of selective aerobic exercise on serum 17-beta estradiol (breast cancer biomarker) and obesity of Postmenopausal wemon. Olampic. 3(43): 45-52
23. McTiernan A, Tworoger SS, Ulrich CM, Yasui Y, Irwin ML, Rajan KB, et al. 2004. Effect of exercise on serum estrogens in postmenopausal women a 12-month randomized clinical trial. Cancer Research. 64(8):2923-8.
24. Hewitt SC, Korach KS. 2003. Oestrogen receptor knockout mice: roles for oestrogen receptors alpha and beta in reproductive tissues. Reproduction. 125(2):143-9.
25. Yoshimoto N, Toyama T, Takahashi S, Sugiura H, Endo Y, Iwasa M, et al. 2011. Distinct expressions of microRNAs that directly target estrogen receptor α in human breast cancer. Breast cancer research and treatment. 130(1):331-9.
26. Kondo N, Toyama T, Sugiura H, Fujii Y, Yamashita H. 2008. miR-206 Expression Is Down-regulated in Estrogen Receptor α–Positive Human Breast Cancer. Cancer research. 68(13):5004-8.
27. Di Leva G, Gasparini P, Piovan C, Ngankeu A, Garofalo M, Taccioli C, et al. 2010. MicroRNA cluster 221-222 and estrogen receptor α interactions in breast cancer. Journal of the National Cancer Institute. 102(10):706-21.