

تأثیر تمرین تناوبی هوازی بر بیان Vimentin، Twist و نسبت حجم تومور در
موش‌های مبتلا به سرطان پستانسمیرا غلامیان (PhD)^۱، سیدرضا عطارزاده حسینی (PhD)^{۲*}، امیر رشیدلمیر (PhD)^۱، حمید آقاعلی نژاد (PhD)^۲

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

دریافت: ۹۷/۱۰/۳۰، اصلاح: ۹۸/۲/۱۸، پذیرش: ۹۸/۳/۱

خلاصه

سابقه و هدف: بسیاری از مرگ‌ومیرهای مبتلایان به سرطان ناشی از متاستاز است و فرآیند درگیر در متاستاز انتقال از حالت اپی‌تلیالی به مزانشیمی است. از آنجائیکه برخی فعالیت‌های ورزشی منظم می‌تواند نقش مهمی در مهار پیشرفت سرطان پستان داشته باشد؛ لذا این مطالعه به منظور بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی هوازی بر بیان بیومارک‌های مزانشیمی و تغییرات حجم تومور در موش‌های مبتلا به سرطان پستان انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، از ۳۲ سر موش ماده نژاد بальسی (۳ تا ۵ هفته با میانگین وزنی 17 ± 1 گرم) استفاده شد. موش‌ها به ۴ گروه مساوی (۱) تمرین تومور، تمرین (تمرین تناوبی هوازی ۶ هفته قبل (۴۰ دقیقه) و ۴ هفته بعد از پیدایش تومور (۳۰ دقیقه) با ریکاوری فعال)، (۲) استراحت تومور، استراحت (کنترل - بدون تمرین)، (۳) استراحت، تومور، تمرین (۴ هفته تمرین بعد از پیدایش تومور) و (۴) گروه تمرین، تومور، استراحت (۶ هفته قبل از پیدایش تومور) تقسیم شدند. بیان ژن‌های Vimentin و Twist با روش Real-Time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن Vimentin بافت تومور در گروه تمرین تومور تمرین (0.22 ± 0.07) نسبت به گروه استراحت تومور استراحت (میانگین ۱) کاهش معنی داری داشت ($p=0.001$). همچنین، بیان ژن Twist نیز در گروه تمرین تومور تمرین (0.24 ± 0.23) نسبت به گروه کنترل (میانگین ۱) کاهش معنی داری داشت ($p=0.008$). کاهش معنی دار نسبت حجم تومور در هر دو گروه (تمرین تومور تمرین و استراحت تومور تمرین) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p=0.001$).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که یک دوره تمرین تناوبی هوازی می‌تواند باعث کاهش بیان ژن‌های Vimentin، Twist و کاهش نسبت حجم تومور شود.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، بیومارک‌های مزانشیمی، تمرین تناوبی، تومور.

مقدمه

سرطان سینه شایع‌ترین نوع سرطان در زنان است و متاستاز، اصلی‌ترین علت مرگ و میر ناشی از این سرطان می‌باشد (۱ و ۲). متاستاز رخدادی است که موفقیت در این فرایند مستلزم آن است که سلول‌های سرطانی توانایی جداسازی از سلول‌های مجاور را داشته باشند. سرانجام به بافت‌های مزانشیمی وارد شوند و در آنجا تشکیل تومور ثانویه دهند. یکی از مراحل حیاتی در آیشار متاستاز، فرایند انتقال از حالت اپی‌تلیالی به حالت مزانشیمی یا همان Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) است. مطالعات نشان داده‌اند که EMT با متاستاز و پیشرفت سرطان مرتبط است (۳ و ۴). EMT فرآیندی است که سلول‌ها طی انتقال از فنوتیپ اپی‌تلیالی به فنوتیپ مزانشیمی، با تهاجم و تحرک بیشتر تغییر می‌کنند. سلول‌های اپی‌تلیالی در یک واحد مجتمع سازمان‌دهی می‌شوند و با از دست دادن پروتئین‌های اتصال سلولی، عناصر اسکلت سلولی با به دست آوردن جنبش، کادهرین‌های مزانشیمی به سلول‌های مزانشیمال تبدیل می‌شوند (۵). مراحل

EMT با یک سری عوامل رونویسی تنظیم می‌شوند که ازجمله آن‌ها Vimentin و Twist است (۶). پروتئین Vimentin روی کروموزوم ۱۲p۱۳ قرار دارد و ۵۷kDa وزن دارد (۷). Vimentin یکی از پروتئین‌های اصلی روی غشا است که باعث حفظ ساختار و شکل سلول و مقاومت آن در برابر تنش می‌شود (۸). Twist متعلق به خانواده پروتئین (helix-loop-helix) است. به عنوان یک عامل رونویسی ۲۱ kDa، در تومورهای جامد انسانی از جمله انواعی از سرطان ظاهر می‌شود (۹). همچنین بیان زیاد Twist و Vimentin با مهار E-کادهرین و القاء EMT باعث افزایش توانایی تهاجم و متاستاز سلول‌های سرطانی می‌شود (۹). نتایج بسیاری از تحقیقات اهمیت نقش Vimentin و Twist را در انواع سرطان و بویژه فرایند EMT و به عنوان بیومارک‌های متاستاز تأیید می‌کنند (۱۰). بر این اساس، اخیراً به عنوان یک هدف برای درمان سرطان در نظر گرفته شده‌اند (۷). تمرینات بدنی با شدت متوسط، با تقویت سیستم ایمنی و

این مقاله حاصل پایان نامه دکتری خانم سمیرا غلامیان دانشجوی رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر سید رضا عطارزاده حسینی

آدرس: مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده علوم ورزشی. تلفن: ۵۱-۳۸۸۰۵۴۱۲

بزرگ‌ترین بعد تومور به‌عنوان طول (L) تومور و بعد دیگر (در زاویه ۹۰ درجه) به‌عنوان عرض (W) تومور در نظر گرفته شد و با استفاده از فرمول حجم تومور Jones و همکاران (۱۶) به‌صورت $V = \frac{1}{2} (L \times W)$ میزان آن تعیین شد. برای تعیین نسبت تغییرات حجم تومور، در گروه‌های مختلف حجم تومور هفته چهارم به هفته اول تقسیم شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های توموری از تمامی گروه‌ها از طریق تزریق درون صفاقی ترکیب کانامین (۹۰mg/kg) و زایلانین (۱۰mg/kg) بیهوش شدند و با جراحی، بافت تومور موش‌ها برداشته شد.

در آزمایشگاه، میزان ۵۰-۱۰۰ میلی‌گرم بافت تومور به همراه ۱ سی سی تریزول در لوله هموژن دستی ریخته شد و بافت هموژن گردید. سپس مایع رویی درون تیوب جدید برای استخراج RNA ریخته شد. استخراج RNA با استفاده از محلول Qiazol و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. برای رونویسی RNA به cDNA از کیت PrimerScript RT Regent استفاده شد. Real cDNA به‌دست‌آمده در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. Time PCR با استفاده از دستگاه (Stepone plus)، بر اساس SYBER-Green و Realtime مطابق دستورالعمل کیت انجام شد. از ژن ACTB به عنوان ژن مرجع برای فرمالایزر کردن نتایج بیان ژن استفاده شد. برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژن مورد نظر از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد.

روش‌های آماری: برای بررسی طبیعی بودن توزیع متغیرها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تقیبی توکی نیز برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. تمام عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد و ($P \leq 0.05$) معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج تفاوت معنی داری را در بیان ژن Vimentin در دو گروه RTR و ETE نشان داد؛ به طوری که در گروه ETE با میانگین (0.233 ± 0.073) نسبت به گروه RTR کاهش معنی داری داشت ($F=27.0/85$, $p=0.0001$)؛ اما بین گروه‌های RTE با میانگین (0.825 ± 0.34) و ETR با میانگین (0.912 ± 0.05) ($p=0.810$) تفاوت معنی داری وجود نداشت.

نتایج تفاوت معنی داری را در بیان ژن Twist در دو گروه RTR و ETE نشان داد؛ به طوری که در ETE گروه با میانگین 0.227 ± 0.24 نسبت به گروه RTR کاهش معنی داری داشت ($F=14/35$, $p=0.008$)؛ اما بین گروه‌های RTE با میانگین 1.066 ± 0.09 و ETR با میانگین 1.59 ± 0.981 ($p=0.156$) تفاوت معنی داری وجود نداشت.

نتایج نشان می‌دهد بین دو گروهی که پس از سرطانی شدن، تمرینات تناوبی هوازی را انجام دادند و دو گروهی که استراحت می‌کردند اختلاف معنی داری وجود دارد. در واقع بین گروه RTR با دو گروه ETE ($p=0.0001$) و گروه RTE ($p=0.0001$) و گروه ETR با دو گروه ETE ($p=0.042$) و گروه RTE ($p=0.0001$) اختلاف معنی داری در نسبت حجم تومور وجود داشت. به گونه‌ای که در گروه ETE حجم تومور در هفته چهارم، رشد $4/79$ برابری نسبت به هفته اول داشت. این نسبت، در گروه RTE $5/51$ برابر، در گروه ETR $7/5$ برابر و در گروه کنترل RTR، رشد حجم تومور نسبت به هفته اول $8/70$ برابر بود (نمودار ۱).

رهای مایوکاین‌ها نقش مهمی در پیشگیری از بروز بیماری‌های التهابی از جمله سرطان پستان دارند. ورزش باعث کاهش درصد چربی بدن، کاهش چاقی و افت التهاب سیستمی با درجه پایین می‌شود. هرکدام از این عوامل در پاتوژن سرطان نقش دارند؛ براساس گزارش پژوهش‌ها، فعالیت بدنی می‌تواند از ۵۰ درصد سرطان‌ها پیشگیری کند (۱۱). با وجود بررسی‌های انجام شده در زمینه تأثیر تمرین ورزشی بر فرآیند EMT، پژوهش‌های بسیار کمی درباره نقش تمرینات ورزشی در بیان ژن بیومارکرهای مزانشیمی در سرطان انجام شده‌اند. در این راستا، Zhang و همکاران بعد از ۹ هفته تمرین شنا با شدت متوسط کاهش بیان ژن نشانگرهای مزانشیمی را در موش‌های مبتلا به سرطان کبد مشاهده کردند (۱۱). آنها با تأکید بر سیستم عصبی بیان کردند که فعالیت ورزشی شنا با شدت متوسط باعث سرکوب فرآیند EMT و در نتیجه، سرکوب رشد تومور می‌شود (۱۲ و ۱۳).

انجام تمرینات تناوبی در افزایش ظرفیت هوازی، استقامت، کاهش وزن و عملکرد متابولیک قلب برای افراد مبتلا به سرطان پستان موثر است (۱۴)؛ اما اثر این نوع تمرین تناوبی هوازی به عنوان یک روش تمرینی در ساز و کارهای سلولی-مولکولی و نحوه اثرها بر مسیرهای سیگنالی مؤثر در رشد تومور و متاستاز کم بررسی شده است. از آنجائیکه تمرینات ورزشی می‌توانند روشی مناسب برای پیشگیری از سرطان و بخشی مهم و حیاتی از فرآیند درمان این بیماری باشند؛ بنابراین، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی هوازی بر بیان mRNA مارکرهای مزانشیمی و تغییرات حجم تومور در بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه‌ی تجربی، به شیوه آزمایشگاهی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی با کد (IR.MUM.FUM.REC.1397.038) بر روی ۳۲ سر موش Balb/c (۳ تا ۵ هفته با میانگین وزن 17 ± 1 گرم) که از موسسه پاستور خریداری شدند، انجام گردید. موش‌ها در آزمایشگاه در شرایط کنترل نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر) دما (22 ± 3 سلسیوس) و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. غذای حیوانات شامل آب و غذای معمول موش بود و دسترسی به آب و غذا آزاد بود. چون موش‌ها از لحاظ غذایی، اندازه وزن و سن و... همگن بودند، به طور تصادفی به چهار گروه: تمرین-تومور-تمرین (ETE= Exercise-Tumor-Exercise)، استراحت-تومور-استراحت (RTR= Rest-Tumor-Rest)، استراحت-تومور-تمرین (RTE= Rest-Tumor-Exercise) و گروه تمرین-تومور-استراحت (ETR= Exercise-Tumor-Rest) تقسیم شدند. گروه RTR به زندگی معمولی خود در قفس ادامه دادند. گروه ETR به مدت ۶ هفته پیش از پیدایش تومور، گروه RTE به مدت ۴ هفته پس از پیدایش تومور، گروه ETE به مدت ۶ هفته پیش از پیدایش و ۴ هفته پس از پیدایش تومور، پروتکل تمرینی را ۵ روز در هفته اجرا کردند (جدول ۱). پروتکل تمرینی بر اساس پروتکل Ranjbar و همکاران می‌باشد (۱۵).

کشت سلول: تومور مورد مطالعه از رده سلولی 4T-1 و از طریق تزریق زیرجلدی سلول ایجاد شد. به هر موش یک میلیون سلول به‌صورت زیرجلدی و متمرکز به ناحیه بالای ران تزریق شد. حجم تومور در ۲ محور طولی و عرضی اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. پروتکل تمرینی

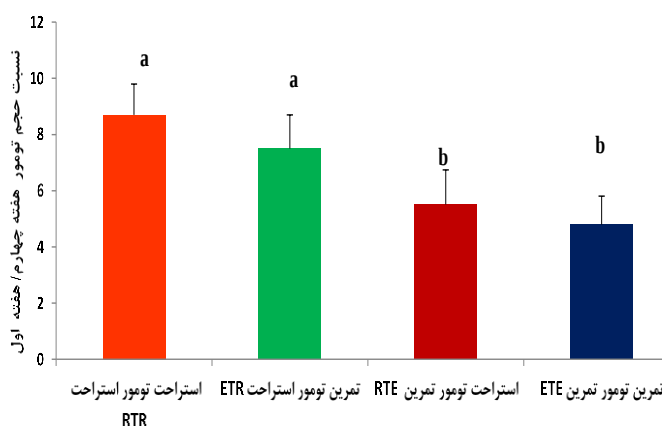
دوره تمرین		مراحل	
دو هفته سوم	دو هفته دوم	دو هفته اول	پیش از القای تومور
سرعت: ۲۵-۳۰	سرعت: ۲۵-۲۰	سرعت: ۲۰-۱۵	
۲۰ اینتروال ۲ دقیقه‌ای	۲۰ اینتروال ۲ دقیقه‌ای	۲۰ اینتروال ۲ دقیقه‌ای	
هفته سوم	هفته دوم	هفته اول	پس از القای تومور
سرعت: ۲۰-۱۵	سرعت: ۲۰-۲۵	سرعت: ۳۰-۲۵	
۱۵ اینتروال ۲ دقیقه‌ای	۱۵ اینتروال ۲ دقیقه‌ای	۱۵ اینتروال ۲ دقیقه‌ای	

جدول ۲. توالی پرایمرها

Genes	Forward sequence	Reverse sequence
Vimentin	ACATCATACGGCTGCGAGAG	GACTTGCTGTTCCTGAATCTGG
Twist	AGCAAAGCCTTCTCCGTCTG	CCTCCTCTGGAAACAATGACATC
ACTB	GGCTGTATTCCCCTCCATCG	CCAGTTGGTAACAATGCCATGT

پیش التهابی در جریان پیشرفت فرایند EMT در تعامل است (۱۷). شواهد آشکاری وجود دارد که بیان ژن $TGF-\beta$ باعث افزایش بیان Vimentin و Twist می‌شود. از طرفی سیگنالینگ $TGF-\beta$ /Smad3 یک مسیر معمول برای القای EMT است. Smad3 فسفریله شده باعث تنظیم بالای بیان Twist، Vimentin و N-cadherin و تنظیم منفی E-cadherin می‌شود (۱۸ و ۱۷). $TGF-\beta$ توسط فسفوریلاسیون سیگنال (ERK) افزایش می‌یابد که در تهاجم بسیاری از تومورها دیده شده است (۲۰ و ۱۹).

Zhang و همکاران با تاکید بر سیستم عصبی مکانیسم اثر تمرین بر فرآیند گذر از اپی تلیال به مزانشیمال (EMT) را چنین بیان کردند که فعالیت ورزشی شنا با شدت متوسط باعث افزایش دوپامین (DA) شده و در پی آن گیرنده دوپامین ۲ (DR2) (که دارای فعالیت ضد توموری است)، فعال می‌شود و از آنجایی که مسیر سیگنالینگ ERK تهاجم تومورهای مختلف را افزایش می‌دهد، باعث افزایش بیان $TGF-\beta$ می‌شود (۲۰ و ۱۹)، با فعال شدن سیگنالینگ DR2 از طریق ورزش، cAMP را کاهش و فعالیت ERK1/ERK2 را مهار می‌کند، که نتیجه آن تنظیم منفی $TGF-\beta$ ، Smad3 در مدل‌های حیوانی می‌شود. بنابراین، مهار انتقال هسته‌ای Smad3 می‌تواند $TGF-\beta$ مربوط به EMT را کاهش دهد (۲۱)؛ که نتیجه این فرآیندها باعث کاهش بیان ژن Vimentin و Twist در بافت تومور می‌شود و از این طریق باعث مهار EMT، رشد تومور و متاستاز در سرطان می‌شود (۲۲). در نتایج این پژوهش نیز کاهش هر دو مارکر مزانشیمی Vimentin و Twist را در دو گروه (RTE و ETE) که تمرین تناوبی هوازی را اجرا کردند، دیده شد. همچنین، به خوبی ثابت شده که IL-6 باعث ترویج تکثیر، متاستاز و آنژیوژنز استئوسارکوم می‌شود و از طریق سیگنالینگ JAK قادر به القای EMT در انواع سلول‌های سرطانی است. سیگنال‌های پایینی دست IL-6 شامل STAT3، Akt و ERK1/2 MAPK است. در میان آنها نشان داده شده است که STAT3 نقش مهمی در IL-6 مدولاسیون EMT دارد (۲۳). در تحقیقی روی افراد مبتلا به سرطان پستان با گیرنده هورمون استروژن مثبت، IL-6 بیان E-cadherin را مختل کرد و باعث افزایش Vimentin و Twist شد (۲۴). از طرفی مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که برخی فعالیت‌های ورزشی سبب کاهش سایتوکاین پیش‌التهابی IL-6 می‌شود. به نظر می‌رسد که



نمودار ۱. نسبت حجم تومور هفته چهارم به اول. داده‌ها صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده‌اند. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد. $P \leq 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شده است.

بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، بیان ژن Vimentin و Twist پس از ۱۰ هفته تمرین تناوبی در گروه تمرین تومور تمرین موش‌هایی که ۶ هفته پیش از توموری شدن و ۴ هفته پس از توموری شدن تمرین تناوبی را اجرا کردند، نسبت به گروه استراحت تومور استراحت که هیچ‌گونه تمرینی نداشتند، کاهش معنی‌داری داشت. همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که رشد حجم تومور در دو گروه تمرینی (RTE و ETE) نسبت به گروه ETR و گروه کنترل RTR، به‌طور قابل توجهی کمتر بود. در خصوص اثرات فعالیت ورزشی بر بیان مارکرهای مزانشیمال در بافت تومور در معدود نتایج موجود است و در توافق با یافته‌های تحقیق حاضر، در مطالعه Zhang و همکاران که اثر تمرین شنا به مدت ۹ هفته با شدت متوسط را بر روی بیان مارکرهای مزانشیمی بررسی کردند، نتایج بیانگر کاهش بیان ژن Twist و Vimentin و حجم تومور در موش‌های مبتلا به سرطان کبد بود (۱۲). سهم سایتوکاین‌های خاص به عنوان واسطه‌های التهابی EMT به‌طور گسترده‌ای در مطالعات بیان شده است، مهمترین آنها $TGF-\beta$ است که با چندین سایتوکاین

با این حال، برخی از مطالعات تأثیر نداشتن تمرینات ورزشی بر تغییرات حجم تومور را نشان داده‌اند (۲۹ و ۳۰). پروتکل تمرینی پژوهش حاضر روی تردمیل تعریف شده است؛ بنابراین، ممکن است تفاوت در شیوه تمرینی، طول دوره تمرینی و نوع تومور القاشده دلیلی برای نتایج غیر همسو با نتایج پژوهش حاضر باشد. کاهش رشد حجم تومور با تمرین تناوبی هوازی در کنار کاهش بیان ژن Twist و Vimentin به طور ضمنی می‌تواند نشان‌دهنده تأثیر مثبت این نوع تمرینات بر فرایند گذر از اپی‌تلیال به مزانشیمال در موش‌های مبتلا به سرطان پستان باشد. شایان ذکر است که پژوهش‌های بسیار کمی در زمینه بررسی تغییرات بیان ژن بیومارکرهای مزانشیمی و همچنین، حجم تومور در نمونه‌های توموری و مبتلا به سرطان پستان در شرایط پاتولوژیک نسبت به تمرینات ورزشی به‌ویژه تمرینات تناوبی هوازی انجام شده است که این امر تفسیر نتایج در این زمینه را دشوار می‌کند. نتایج مثبت نشان می‌دهد که ممکن است فرآیندهایی مانند کاهش خون‌رسانی به سلول‌های توموری در کاهش رشد تومور دخیل باشند؛ البته با توجه به اینکه عوامل مؤثر در فرآیند EMT زیاد هستند و فاکتورهای دیگری نیز ممکن است در این فرآیند تأثیر داشته باشند، با اطمینان کامل نمی‌توان اختلاف حجم تومور در گروه‌ها را صرفاً ناشی از متغیرهای پژوهش حاضر دانست؛ بنابراین، بهتر است فاکتورها و مکانیزم‌های درگیر دیگری در فرآیند EMT نیز ارزیابی شوند تا نتایج پژوهش حاضر به صورت واضح‌تر تفسیر شود. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که یک دوره تمرین تناوبی هوازی می‌تواند باعث کاهش بیان ژن‌های Twist، Vimentin و کاهش نسبت حجم تومور شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد جهت حمایت از این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

ورزش از طریق عوامل زیادی از قبیل اثرگذاری بر مسیر JAK/STAT3 می‌تواند به کاهش IL-6 توموری و بیان STAT3 منجر شود و در نتیجه، از این مسیر سبب کاهش تکثیر سلولی، تغییر شکل سلولی، متاستاز و حجم تومور شود. از طرفی، عامل تومور به‌عنوان یک استرس برون‌سلولی سبب افزایش بیان این پروتئین‌ها می‌شود؛ اما فعالیت ورزشی تناوبی هوازی به‌دلیل ماهیت متفاوت خود؛ برخلاف تمرین پیوسته از افزایش مداوم و مضاعف گرما و جریان خون به ناحیه توموری جلوگیری می‌کند و در این نوع فعالیت برخلاف فعالیت پیوسته استرس کمتری در ناحیه تومور ایجاد می‌شود که شاید یکی از این دلایل کاهش این پروتئین و حجم تومور باشد. همچنین، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که رشد حجم تومور در دو گروه تمرینی (RTE و ETE) نسبت به گروه ETR و گروه کنترل RTR، به طور قابل توجهی کمتر بود؛ به گونه‌ای که در گروه ETE، حجم تومور در هفته چهارم، رشد ۴/۷۹ برابر نسبت به هفته اول داشت. این نسبت، در گروه RTE ۵/۵۱ برابر، در گروه ETR ۷/۵ برابر و در گروه کنترل RTR رشد حجم تومور نسبت به هفته اول ۸/۷۰ برابر بود؛ بنابراین، میزان رشد حجم تومور در گروهی که هرگز ورزش نکرده بودند نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر بود. همچنین در نتایج پژوهش حاضر مشخص شد که در دو گروه ETR و ETE که قبل از سرطانی شدن ۶ هفته تمرین تناوبی اجرا کردند نسبت به گروه کنترل RTR که هیچگونه تمرین تناوبی نداشتند، نسبت حجم تومور کمتر است. که این نتایج نشان می‌دهد، ورزش علاوه بر اینکه می‌تواند نقش کمک درمانی در سرطان داشته باشد، نقش پیشگیرانه نیز در سرطان دارد. هم‌راستا با پژوهش حاضر، مطالعات دیگر کاهش حجم تومور را در نتیجه ورزش کردن نشان داده‌اند (۲۵ و ۲۶). Zielinski و همکاران کاهش و تأخیر رشد تومور در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل را پس از ۴ هفته تمرین استقامتی به کاهش میزان سلول‌های ایمنی در تومور نسبت دادند (۲۷). بر اساس پژوهش Murphy و همکاران، فعالیت هوازی با کاهش رشد حجم تومور پیشرفت تومور را در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل نشان داد (۲۸)؛

Effect of Aerobic Interval Training on Expression of Twist and Vimentin and the Rate of Tumor Volume in Mice with Breast Cancer

S. Gholamian (PhD)¹, S.R. Attarzadeh hosseini (PhD)*¹, A. Rashidlamir(PhD)¹, H. Aghaalinejad (PhD)²

1.Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R.Iran

2.Department of Sports Sciences, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 22; 2020; PP: 24-30

Received: Jan 20th 2019, Revised: May 8th 2019, Accepted: May 22nd 2019.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Many deaths from cancer are due to metastases, a process which involves the epithelial-mesenchymal transition (EMT). On the other hand, regular exercise plays an important role in inhibiting the progression of breast cancer. Therefore, the purpose of this study was to investigate the influence aerobic interval training on expression of mesenchymal biomarkers, and tumor volume in mice with breast cancer.

METHODS: In this experimental study, Thirty-two female BALB/c mice, aged 3-5 weeks (17±1g) were used. The mice were allocated to four groups: Exercise Tumor, Exercise (aerobic Interval training was performed six weeks (40 minutes) before and four weeks (30 minutes) after the induction of carcinoma with active recovery), Rest Tumor, Rest (Control-without exercise), Rest, Tumor, Exercise, (four weeks after the induction of carcinoma) and Exercise, Tumor, Rest (six weeks before the induction of carcinoma). The real-time PCR method was used to evaluate the expression of Vimentin and Twist.

FINDINGS: The results of present study demonstrated that tumor tissue Vimentin expression in the Exercise Tumor Exercise (223.0±0.073) group decreased significantly ($p=0.0001$), Also, the expression of Twist gene was significantly reduced in Exercise Tumor Exercise group (0.24±0.227) compared to control group ($p=0.008$). A significant decrease in tumor volume was observed in both RTE and ETE groups compared to the control group (RTR) ($p=0.0001$).

CONCLUSION: Based on the results of this study, a period of interval aerobic training can decrease the expression of Vimentin, Twist and decrease the tumor volume ratio.

KEY WORDS: Breast cancer, Mesenchymal biomarkers, Interval training, Tumor.

Please cite this article as follows:

Gholamian S, Attarzadeh hosseini S.R, Rashidlamir A, Aghaalinejad H. Effect of Aerobic Interval Training on Expression of Twist and Vimentin and the Rate of Tumor Volume in Mice with Breast Cancer. J Babol Univ Med Sci. 2020; 22: 24-30.

*Corresponding Author: S.R. Attarzadeh hosseini (PhD)

Address: Faculty of Sports Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R.Iran

Tel: +98 51 38805412

E-mail: Attarzadeh@um.ac.ir

References

- 1.Enayatrad M, Amoori N, Salehiniya H. Epidemiology and trends in breast cancer mortality in iran. *Iran J Public Health*. 2015;44(3):430-31.
- 2.Motamedi M, Hashemzadeh Chaleshtori M, Ghasemi S, Kheiri S, Haji Gholami A. The association of mir-451 and mir-21 in plasma with lymph node metastases in breast cancer. *J Babol Univ Med Sci*. 2018;20(4):12-16. [In Persian]
- 3.Chai JY, Modak C, Mouazzen W, Narvaez R, Pham J. Epithelial or mesenchymal: Where to draw the line? *Biosci trends*. 2010;4(3):130-42.
- 4.Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest*. 2009;119(6):1420-8.
- 5.Kalcheim C. Epithelial-mesenchymal transitions during neural crest and somite development. *J Clin Med*. 2016;5(1):1.
- 6.Wu Y, Sarkissyan M, Vadgama JV. Epithelial-mesenchymal transition and breast cancer. *J Clin Med*. 2016;5(2):13.
- 7.Satelli A, Li S. Vimentin in cancer and its potential as a molecular target for cancer therapy. *Cell Mol Life Sci*. 2011;68(18):3033-46.
- 8.Wu Y, Zhang X, Salmon M, Lin X, Zehner ZE. TGFbeta1 regulation of vimentin gene expression during differentiation of the C2C12 skeletal myogenic cell line requires Smads, AP-1 and Sp1 family members. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1773(3):427-39.
- 9.Hwangbo C, Tae N, Lee S, Kim O, Park OK, Kim J, et al. Syntenin regulates TGF-β1-induced Smad activation and the epithelial-to-mesenchymal transition by inhibiting caveolin-mediated TGF-β type I receptor internalization. *Oncogene*. 2016;35(3):389-401.
- 10.Li X, Yang J, Wang X, Li X, Liang J, Xing H. Role of TWIST2, E-cadherin and Vimentin in epithelial ovarian carcinogenesis and prognosis and their interaction in cancer progression. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2016;37(1):100-8.
- 11.Lee IM. Physical activity and cancer prevention-data from epidemiologic studies. *Med Sci Sports Exerc*. 2003;35(11):1823-7.
- 12.Zhang LJ, Liu W, Gao YM, Qin YJ, Wu RD. The expression of IL-6 and STAT3 might predict progression and unfavorable prognosis in Wilms' tumor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;435(3):408-13.
- 13.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.
- 14.Meyer K, Samek L, Schwaibold M, Westbrook S, Hajric R, Lehmann M, et al. Physical responses to different modes of interval exercise in patients with chronic heart failure- Application to exercise training. *Eur Heart J*. 1996;17(7):1040-7.
- 15.Ranjbar K, Agha Alinejad H, Shahbazi Sh, Molanouri Shamsi M, Chekachak S, Chenari J, et al. Interval aerobic exercise and selenium nanoparticle stimulate autophagy in mice with cancer cachexia. *Int J Cancer Oncol*. 2018;5(1):35-40.
- 16.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. *J Appl Physiol*. 2010;108(2):343-8.
- 17.Massague J. TGFbeta in Cancer. *Cell*. 2008;134(2):215-30.
- 18.Tian F, Byfield DS, Parks WT, Yoo S, Felici A, Tang B, et al. Reduction in Smad2/3 signaling enhances tumorigenesis but suppresses metastasis of breast cancer cell lines. *Cancer Res*. 2003;63(23):8284-92.
- 19.Lee J, Roh KB, Kim SC, Lee J, Park D. Soy peptide-induced stem cell proliferation: involvement of ERK and TGF-β1. *J Nutr Biochem*. 2012;23(10):1341-51.
- 20.Mulder KM. Role of Ras and Mapks in TGFβ signaling. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2000;11(1-2):23-35.
- 21.Medeiros A, Oliveira EM, Gianolla R, Casarini DE, Negrão CE, Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. *Braz J Med Biol Res*. 2004;37(12):1909-17.

22. Terada Sh, Tabata I, Higuchi M. Effect of high-intensity intermittent swimming training on fatty acid oxidation enzyme activity in rat skeletal muscle. *Jpn J Physiol.* 2004;54(1):47-52
23. Kumari N, Dwarakanath BS, Das A, Bhatt AN. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. *Tumour Biol.* 2016;37(9):11553-72.
24. Sullivan NJ, Sasser AK, Axel AE, Vesuna F, Raman V, Ramirez N, et al. Interleukin-6 induces an epithelial–mesenchymal transition phenotype in human breast cancer cells. *Oncogene.* 2009;28(33):2940-7.
25. Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical activity and cancer prevention: Etiologic evidence and biological mechanisms. *J Nutr.* 2002;132(11 Suppl):3456-64.
26. Liu X, Chu KM. E-cadherin and gastric cancer: Cause, consequence, and applications. *Biomed Res Int.* 2014;2014:637308.
27. 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.
28. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux TL, McClellan JL, Steiner JL, Carmichael MD, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine.* 2011;55(2):274-9.
29. Betof AS, Dewhirst MW, Jones LW. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: A translational perspective. *Brain Behav Immun.* 2013;30 Suppl:S75-87.
30. Woods JA, Vieira VJ, Keylock KT. Exercise, inflammation, and innate immunity. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2009; 29(2):381-93.