مقاله پژوهشی

فصلنامهٔ بیماری‌های پستان ایران، سال هفتم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۳

اثر تمرین هوازی بر بیان let-7a microRNA و IL-6 بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان

لیلا انوشه: دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی، دکترای فیزیولوژی ورزش
محمدرضا کردی*: دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی، دانشیار فیزیولوژی ورزش
عباسعلی گایینی: دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی، استاد فیزیولوژی ورزش
رضا مهدیان: انستیتو پاستور ایران، تهران، استادیار گروه بیوتکنولوژی پزشکی
زهرا میرآخوری: دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی، دکترای فیزیولوژی ورزش
صادق امانی شلمزاری: دانشگاه تربیت مدرش، دانشکده علوم انسانی، دکترای فیزیولوژی ورزش
اشرف امینی: دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی، دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش

چکیده

مقدمه: سایتوکاین IL-6 در ریز محیط تومور در سرطان پستان، نقش پیش التهابی دارد و از آنجایی‌که بین IL-6 و میکرو let-7a RNA، که در اغلب سرطان‌ها به عنوان سرکوب‌کننده تومور عمل می‌کند، یک حلقه بازخوردی مثبت وجود دارد، در این تحقیق، اثر تمرین هوازی بر بیان میکرو let-7a RNA و IL-6 بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان را بررسی کردیم.

روش‌بررسی: تعداد ۲۰ سر موش بالب سی ماده (چهار تا پنج هفته) با تزریق زیر جلدی سلول‌های سرطانی وابسته به گیرنده استروژن MC4-L2، به سرطان پستان مبتلا شده و به دو گروه ۱۰ تایی تومور- تمرین (TT) و تومور- کنترل (TC) تقسیم شدند. گروه تومور- تمرین به مدت ۶ هفته، ۵ روز در هفته تمرین هوازی با شدتی برابر با ۱۴-۱۸ متر بر دقیقه انجام دادند. پس از پیدایش تومور، طول و عرض تومور با کولیس دیجیتالی هر هفته اندازه‌گیری شد. موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین قربانی شدند و نمونه‌های بافتی برداشته و در دمای ۷۰- درجه ذخیره شد. بافت تومور هموژنایز شد و میزان بیان میکرو let-7a RNA به روش Real time – PCR و IL-6 به روش الایزا اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری let-7a، توسط نرم‌افزار REST انجام شد. آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر و آزمون تی مستقل برای بررسی حجم تومور و IL-6 به کار گرفته شد.

یافته‌ها: حجم تومور و IL-6 در گروه تومور- تمرین نسبت به گروه تومور- کنترل کاهش، ولی بیان let-7a افزایش معناداری داشت ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد در این پژوهش، کاهش حجم تومور مشاهده شده در موش‌های بالب‌سی، به دنبال تمرینات هوازی تا حدودی به علت افت عوامل التهابی مانند IL-6 و افزایش let-7a است. این یافته‌ها از تأثیر تمرین ورزشی بر کاهش رشد تومور در سرطان‌های مدل موشی حمایت کرده و می‌توان تا حدودی این نتایج را به خواص ضد التهابی تمرین ورزشی نسبت داد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، تمرین هوازی، میکرو let-7a RNA، IL-6.

* نشانی نویسنده پاسخگو: کارگر شمالی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، محمدرضا کردی.
نشانی الکترونیک: mrkordi@ut.ac.ir

مقدمه

وضعیت التهابی در ارگان‌های مختلف بدن، خطر ابتلا به سرطان را افزایش می‌دهد (۱). تحقیقات تجربی و اپیدمیولوژیکی پیشنهاد می‌کنند، یک رابطه محکم، بین التهاب و انواع مختلف سرطان وجود دارد. نشان داده شده است IL-6 در سرطان‌های اپیتلیالی نظیر کارسینومای[1] پستان افزایش می‌یابد (۲). IL-6 سایتوکاینی است که در ریز محیط تومور عملکرد پیش التهابی داشته و در رگ‌زایی و متاستاز نقش دارد (۳). رگ‌زایی، به ایجاد عروق جدید گفته می‌شود، که در تومور، باعث ازدیاد جریان خون و در نتیجه افزایش رشد آن می‌شود (۴).

مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهند، بین فعالیت ورزشی و سرطان پستان رابطه نزدیکی وجود دارد. اگر چه کمبود مطالعات تجربی کنترل شده، که رابطه موجود و سازوکارهای درگیر را آزمایش کرده باشند، اساس وجود این رابطه را تضعیف می‌کند (۵-۷). از طرف دیگر استفاده از مدل‌های حیوانی برای فهم بهتر سازوکارهای مرتبط با فعالیت ورزشی و سرطان لازم است زیرا در مطالعات اپیدمیولوژیکی که روی نمونه‌های انسانی صورت می‌گیرد، اطلاعات جزیی در مورد آغاز، پیشرفت یا بهبود سرطان به‌دست می‌آید (۵). زیلنیسکی و همکارانش گزارش کردند، تمرینات هوازی، چگالی ماکروفاژها و نوتروفیل‌های درون توموری را که در تولید سایتوکاین‌های رگ‌زا نقش دارند، کاهش می‌دهد و منجر به کاهش حجم تومور می‌شود (۶). مورفی و همکارانش نیز کاهش حجم تومور را به دنبال تمرینات هوازی، در موش‌های سرطانی مشاهده کردند و آن را به افت عوامل التهابی نسبت دادند (۷). گفته می‌شود که این کاهش التهاب، احتمالاً در اثر کاهش رهایش سایتوکاین‌ها از قبیل IL-6، در پاسخ به انقباض عضلانی منظم است (۸).

از طرفی، در پاسخ به تحریک خارجی مانند تمرین ورزشی، بیان ژنی به وسیله سازوکارهای متفاوتی نظیر، خاموش شدن بیان ژن توسط miRNA[2]، می‌تواند تنظیم شود (۹ و ۱۰). miRNAs، RNAهای غیرکدگذار کوچک هستند که بیان ژنی را از طریق از بین بردن مولکول‌های mRNA و یا از طریق جلوگیری از ترجمه آنها تنظیم می‌کنند (۱۳-۱۱).

let-7[3] خانواده‌ای از miRNA است که در ژنوم انسان دوازده عضو داشته و رابطه نزدیکی با انواع سرطان‌ها دارد. Let-7a یکی از اعضای let-7 است که به عنوان سرکوب کننده تومور عمل می‌کند (۲). نشان داده شده است، کاهش بیان ژنی let-7a با افزایش تومورزایی همراه است، در حالی که افزایش بیان ژنی آن باعث کاهش سلول‌های تومور کاشت شده و هم خود تومور می‌شود (۱۴ و ۱۵). مطالعات نشان داده‌اند تزریق let-7a به موش‌های مبتلا به سرطان ریه، منجر به کاهش رشد تومور شده است (۱۶). نتایج مشابه در سرطان‌های پستان،کولون و کبد نیز مشاهده شد (۱۷). دیمیتریوس ایلیوپولوس و همکارانش مشخص کردند، IL-6 یک ژن هدف بالقوه برای let-7a می‌باشد به‌طوری‌که، let-7a از طریق پیوستن به انتهای '3 IL-6، می‌تواند به طور مستقیم، مانع بیان ژنی آن شود، IL-6 نیز می‌تواند به صورت غیرمستقیم، مانع بیان ژنی let-7a شود. بنابراین، بین IL-6 و let-7a یک حلقه بازخوردی مثبت وجود دارد. همچنین نتایج تحقیق ذکر شده، نشان داد در بافت‌های سرطانی نسبت به بافت‌های طبیعی بدن، سطوح let-7a کمتر و سطوح IL-6 بیشتر است. مهم‌تر این‌که، هم در افراد سالم و هم در افراد سرطانی، یک رابطه معکوس برجسته بین let-7a و IL-6 بافت‌های پستان، پروستات و کبد وجود دارد (۲).

با وجود این که نشان داده شده است به دنبال تمرینات هوازی، التهاب کاهش می‌یابد، ولی نتایج موجود به خصوص در زمینه سرطان قاطع نیست. از طرفی، با توجه به موارد ذکر شده در مورد وجود حلقه بارخوردی مثبت بین IL-6 و let-7a، این سوال مطرح می‌شود که آیا می‌توان بخشی از خواص ضدالتهابی و ضدتوموری تمرینات هوازی را به تاثیر آن بر میزان let-7a نسبت داد. لذا هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر یک دوره تمرین هوازی با شدت متوسط بر let-7a و IL-6 در بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان می‌باشد.

---

[1] Carcinoma
[2] MicroRNA
[3] Lethal-7

مواد و روش‌ها

آزمودنی‌ها: پژوهش حاضر از نوع تجربی و توسعه‌ای بوده که به شیوه میدانی و آزمایشگاهی انجام شد. به این منظور تعداد ۲۰ سر موش بالب سی[3] ماده (چهار تا پنج هفته، میانگین توده بدنی ۱۷ گرم) از مؤسسه پاستور خریداری و به حیوان‌خانه منتقل شدند. موش‌ها به تعداد محدود و به صورت جداگانه در دمای ۲۳ درجه سلسیوس و رطوبت حدود ۴۵٪ نگه‌داری شدند (۱۰ موش در هر قفس). ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی(شروع روشنایی شش صبح و شروع خاموشی شش عصر) برای تطابق فیزیولوژیک موش‌ها رعایت شد. غذای حیوانات شامل آب و غذای معمول موش بود که به صورت آزاد و در اختیار تا پایان پروتکل در دسترس موش‌ها بود.

پروتکل تمرینی: تمامی موش‌ها به مدت یک هفته با شرایط زندگی در حیوان‌خانه و نحوه دویدن روی نوارگردان آشنا شدند، سپس سلول‌های سرطانی به موش‌ها تزریق شد و پس از ۱۰ روز، موش‌ها به شکل تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی تومور- کنترل (TC)، که هیچ‌گونه تمرینی انجام نمی‌دادند و تومور- تمرین (TT) که مطابق جدول ۱ به مدت شش هفته، پنج روز در هفته تمرین هوازی با شدت متوسط انجام می‌دادند، تقسیم شدند. پروتکل شامل تمرین هوازی به صورت دویدن روی نوارگردان بود.

از این نوع تمرین استفاده شد چون به راحتی شدت و مدت تمرین تحت کنترل پژوهشگر می‌باشد. از آنجا که پزشکان و متخصصان توصیه نموده‌اند شدت تمرین برای بیماران سرطانی باید موثر، ایمن و لذت‌بخش باشد و برنامه تمرینی که برای فرد سالم شدت کم یا متوسط دارد، ممکن است برای بیمار مبتلا به سرطان شدید تلقی شود، در این پژوهش شدت تمرین، متوسط در نظر گرفته شد (۷۰-۵۵٪ VO_2max). شدت‌های تمرینی به‌کار گرفته شده در پژوهش حاضر، با استفاده از منابع بونن و همکارانش و کیولو و همکارانش محاسبه شده‌است (۱۸).

کشت سلول: سلول کارسینومای مجاری پستان گیرنده استروژن مثبت (MC4-L2) که هدیه‌ای از دکتر لاناری[4] از دانشگاه بوینس‌ایریس آرژانتین بود، مورد استفاده قرار گرفت (۱۹). 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٪ کشت داده شدند. پس از پرکردن ۹۰٪ سطح فلاسک بوسیله سلول‌ها، مایع رویی برداشت شد و پس از شستشو با PBS، در مرحله بعد با آنزیم تریپسین ۰/۰۲۵ از کف پلیت سلول‌ها جدا شده و پس از خنثی سازی آنزیم با محیط حاوی FBS 10%، همه محتویات فلاسک داخل لوله فالکون ریخته شد و در دور ۱۲۰۰ به مدت ۵-۳ دقیقه سانتریفیوژ شد، در مرحله بعد مایع روئی برداشته شد و پلاک سلولی در داخل محیط حاوی FBS 10% حل گردید. سپس برای تعیین زنده مانده و شمارش سلولی به ترتیب از تریپان‌بلو و لام هماسیتومتر استفاده شد (۱۸).

ایجاد تومور: ابتدا سلول‌های مورد نظر در محیط آزمایشگاهی به منظور دستیابی به میزان معینی از سلول، کشت داده شدند و بعد از آنکه 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 بالب-سی ماده پس از بی‌هوشی با مقدار مناسب کتامین[5] و زایلازین[6] (۱۰ میلی‌گرم به یک میلی‌گرم)، یک میلیون سلول به صورت زیر جلدی به ناحیه بالای ران سمت

جدول۱. پروتکل تمرین هوازی روی نوارگردان

دوره تمرین	سرعت(متر بردقیقه)	زمان(دقیقه)	تکرار(روز در هفته)
مرحله آشنا سازی	۶-۱۰	۲۰	۵
دو هفته اول	۱۴	۲۵	۵
دو هفته دوم	۱۶	۳۰	۵
دو هفته سوم	۱۸	۳۰	۵

[3]BALB/c Mice

[4]Dr.Lanari
[5]Ketamine
[6]Xylazine

راست تزریق گردید. در حدود ۱۰ الی ۱۴ روز تومور در محل تزریق قابل لمس بود. پس از پیدایش تومور، هر هفته دو بعد طول (L) و عرض (W) تومور اندازه‌گیری شد. برای محاسبه حجم تومور از فرمول جونز و همکاران [$V=\pi/6(L^2\times W)$] استفاده شد (۲۰).

اندازه‌گیری IL-6: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های هر دو گروه، پس از بی‌هوش شدن با محلول زایلازین و کتامین قربانی شدند. سپس بافت تومور آنها توسط پنس و قیچی جدا گردید و قسمت مرکزی آن (قسمت نکروز شده) حذف شد. قسمت رویی تومور بلافاصله در ازت مایع فریز و در دمای ۷۰- درجه سانتی-گراد نگه‌داری شد. در آزمایشگاه ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم بافت تومور به همراه یک سی سی ترایزول در لوله هموژن دستی ریخته و بافت هموژن شد. سوسپانسیون رویی حاصل، به میکروتیوپ های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. میکروتیوپ‌ها به مدت ۱۰دقیقه (۱۵۰۰g، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) سانتریفوژ شدند تا اجزاء بزرگتر رسوب نمایند. سپس ازمحلول رویی[7] برای بررسی IL-6 به روش برادفورد، استفاده شد. اندازه‌گیری IL-6 به وسیله روش آزمایشگاهی الایزا، طبق دستورالعمل کیت ab100713 ساخت شرکت abcam انجام شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA: مراحل استخراج RNA بر اساس پروتکل ترایزول[8] انجام شد، سپس برای استخراج let-7 microRNA پس از اضافه نمودن ایزوپروپانول[9]، محلول رویی به مدت ۱ شبانه روز در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگه داری و به ترتیب، مراحل بعدی استخراج انجام شد. برای ساخت cDNA از کیت Stratagene، مطابق با پروتکل شرکت، استفاده شد.

Real Time-PCR: ابتدا غلظت مطلوب cDNA و پرایمر مربوط به let-7 microRNA با استفاده از آزمایش سریال غلظت، مشخص شد.

برنامه Real Time-PCR روی دستگاه کوربت، شامل ۹۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه ۴۵ سیکل، ۹۵ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۰ درجه به مدت ۱۵ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۲۰ ثانیه بود. از U6 به عنوان ژن کنترل let-7 استفاده شد. پرایمر های طراحی شده و استفاده شده در جدول ۲ آمده است.

جدول۲: پرایمرهای آغازگر جلویی و برگشتی let-7a و U6

	آغازگر جلویی	آغازگر برگشتی	NCBI
let-7a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	----	**NR_029725**
U6	GCGCGTCGTGAAGCGTTC	G TGCAGGGTCCGAGGT	**NR_003027**

روش‌های آماری:

از آزمون کولموگروف- اسمیرنف برای بررسی نرمال بودن متغیرهای وابسته در مراحل مختلف پژوهش، استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد توزیع داده‌ها در تمام مراحل پژوهش نرمال بودند. بنابراین، آزمون‌های پارامتریک استفاده شد. در نرم‌افزار SPSS، آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر برای بررسی حجم تومور و آزمون تی مستقل برای تجزیه و تحلیل IL-6 به کار گرفته شد. برای مقایسه بیان ژن let-7a دو گروه تومور- تمرین و تومور- کنترل، از نرم‌افزار REST[10] استفاده شد. از نرم افزار Exel برای ترسیم نمودارها و از آمار توصیفی برای توصیف داده‌ها استفاده گردید. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

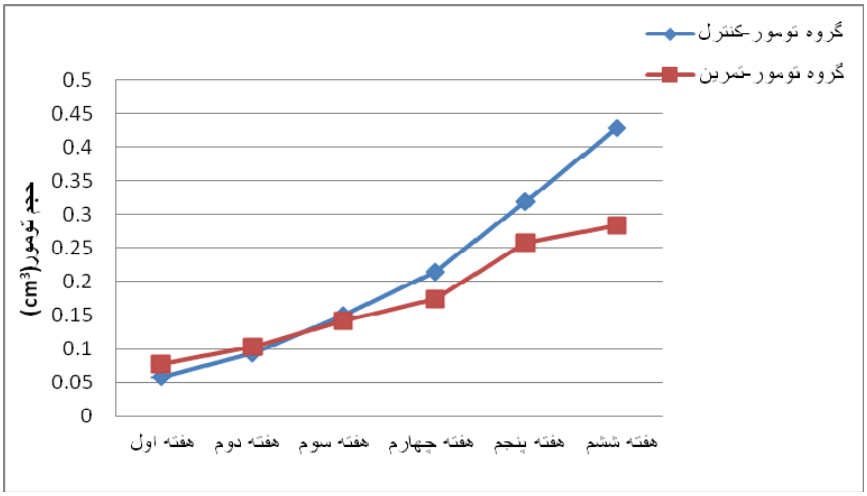
نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر نشان داد بین رشد حجم تومور دو گروه، اختلاف معناداری وجود داشت (جدول۳). میانگین حجم تومور در گروه‌های

[3]Supernatant
[8]Trizol
[9]Isopropanol
[10]Relative Expression Software Tool

جدول ۳: میانگین حجم تومور در گروه‌های تومور-تمرین و تومور-کنترل و نتایج آزمون تحلیل واریانس با گیری‌های مکرر(واحد حجم تومور میلی‌متر مکعب)اندازه

	تومور-تمرین	تومور-کنترل
هفته اول	۷۷/۷±۱/۰۵	۵۸/۰۹±۷/۹
هفته دوم	۱۰۲/۷±۱۵/۴	۹۲/۴۷±۲۵/۱
هفته سوم	۱۴۴±۲۳/۶۹	۱۴۲/۷±۳۹/۵
هفته چهارم	۱۷۳/۸±۳۱/۴	۲۰۳/۸±۶۲/۷
هفته پنجم	۲۵۷/۶±۳۸/۱	۳۰۷/۵±۷۴/۴
هفته ششم	۲۸۳/۷±۳۰/۸	۴۱۹/۳±۹۲/۹
نسبت F بین گروهی		۹/۷
P-value بین گروهی		۰/۰۰۱*

*سطح معنی‌داری ۵ درصد



نمودار ۱: روند رشد تومور در گروه‌های پژوهش

تومور- تمرین و تومور- کنترل در شش هفته اجرای پروتکل تمرین در جدول ۳ و روند رشد تومور در نمودار یک نشان داده شده است. همان‌گونه که در نمودار یک مشاهده می‌شود، حجم اولیه تومور در دو گروه تومور- تمرین و گروه تومور- کنترل تقریباً برابر بوده ولی میزان نهایی و روند رشد تومور، در گروه تومور- کنترل بالاتر از گروه تومور- تمرین بود.

نتایج به دست آمده از روش کمی Real-Time PCR با استفاده از نرم‌افزار REST، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند(جدول۴). داده‌ها افزایش معنادار بیان ژن let-7a را در گروه تومور- تمرین نسبت به گروه تومور- کنترل نشان دادند ($P<۰/۰۵$).

همچنین نتایج تی مستقل نشان داد، بین میزان IL-6 در بافت تومورگروه تومور- تمرین، نسبت به میزان آن در گروه تومور-کنترل، اختلاف معناداری وجود دارد ($t=۳/۱۱$ ،$P=۰/۰۰۷$).

جدول ۴: نتیجه بررسی آماری let-7a microRNA با استفاده از نرم‌افزار REST

ژن	نوع	کارایی واکنش	بیان	P(H1)	نتیجه
U6	مرجع	۱.۰	۱.۰۰۰		
Let-7	هدف	۱.۰	۲۱.۳۶۶	۰.۰۰۰	افزایش

بحث

در پژوهش حاضر، کاهش حجم تومور در گروه تومور- تمرین، به دنبال یک دوره تمرین هوازی نسبت به گروه تومور- کنترل، مشاهده شد. سازوکارهای تأثیر تمرین ورزشی بر حجم تومور، پیچیده و نامشخص است. وضعیت التهابی، یکی از سازوکارهای درگیر در رشد تومور است که نشان داده شده است، تمرین هوازی، موجب کاهش این وضعیت می‌شود. در این تحقیق، سطوح IL-6 که در بافت تومور به عنوان یک سایتوکاین پیش التهابی عمل می‌کند، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، پس از یک دوره تمرین هوازی، سطوح این سایتوکاین به طور معنی داری کاهش یافت.

سایتوکاین IL-6 طیف وسیعی از مسیرهای پیام‌دهی منجر به فرآیند رگ‌زایی، را فعال می‌کند. پژوهش‌ها نشان می‌دهند، این سایتوکاین در بافت تومور، باعث فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانیNF-kB[11]، JNK[12]، ERK[13] و P38 MAPK[14] می‌شود (۲). که نهایتاً منجر به تحریک سلول‌های اندوتلیال عروق شده و باعث رگ‌زایی و افزایش رشد تومور می‌شود (۲۱).

در سال‌های اخیر، در کشورهای پیشرفته حوزه‌های جدیدی در رابطه با ورزش شکل گرفته است که با رویکرد درمانی به ورزش نگاه می‌کنند. نتایج پژوهش بتوف و همکارانش در موش‌های مبتلا به سرطان پستان نشان داد، تمرین هوازی به عنوان یک روش درمانی، می‌تواند رشد تومور را در گروه‌هایی که تمرین هوازی انجام داده بودند نسبت به سایر گروه‌ها تا دو برابر کاهش دهد (۲۲). همچنین تمرین ورزشی باعث بهبود اثر شیمی‌درمانی در کاهش رشد تومور شد (۲۳). با این که این نتایج نشان می‌دهد، فعالیت ورزشی هوازی می‌تواند خاصیت ضدتوموری برای بیماران مبتلا به سرطان پستان داشته باشد، ولی در این مطالعه نیز مانند پژوهش‌های دیگر، سازوکارهای مولکولی درگیر، مورد بررسی قرار نگرفته است.

هم‌راستا با داده‌های حاصل از حجم تومور در پژوهش حاضر، مطالعات دیگر نیز کاهش حجم تومور به دنبال تمرین منظم ورزشی، گزارش کرده‌اند (۶، ۷، ۱۸ و ۲۳). مورفی و همکارانش کاهش حجم تومور را پس از بیست هفته تمرین در موش‌های سرطانی، گزارش کردند که آن را به کاهش سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند IL-6 نسبت دادند و ارتباط مستقیمی بین سایتوکاین‌های پیش- التهابی و حجم تومور گزارش کردند (۷). زیلینسکی و همکارانش نیز نشان دادند فعالیت شدید بر رشد تومور با اثرگذاری بر ریز محیط تومور اثرگذاراست و منجر به تاخیر در رشد تومور می‌شود (۶). ورما و همکارانش کاهش حجم تومور ناشی از تمرین هوازی را با کاهش آنژیوژنز، کاهش بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروقی[15]، مقادیر اریتروسیت و لاکتات ریزمحیط تومور و افزایش اکسیژن و نیتریک اکساید، مرتبط می‌دانند (۲۴).

از طرف دیگر در پژوهش حاضر نشان داده شد، میزان let-7 در گروه تومور- تمرین نسبت به گروه تومور- استراحت، به طور معنی‌داری افزایش یافت. مطالعات فراوانی نشان داده‌اند، در بسیاری از سرطان‌ها بیان ژنی let-7 کاهش می‌یابد. در یک مطالعه مدل حیوانی(موشی سرطان پستان)، تزریق let-7 باعث تنظیم کاهشی انکوژن‌های HMGA[16] و Ras شد (۲۵). گزارش شده است، let-7 می‌تواند گیرنده استروژن را مورد هدف قرار داده و به صورت بالقوه، مانع سیگنالینگ استروژن در سرطان‌های پستان گیرنده استروژن مثبت، شود. همچنین نشان داده شده است let-7 از طریق سرکوب کردن بیان آنژیوژنین، فاکتور رشد فیبروبلاستی، متالوپپتیداز ماتریکسی[۲] و IL-6، می‌تواند از رشد تومور، آنژیوژنز و متاستاز در سرطان پستان جلوگیری کند (۱۷).

یک مطالعه در سال۲۰۱۱، تأثیر متفورمین[17] را در سرطان پستان بررسی کرده است. نتایج این پژوهش افزایش ۱۸ برابری let-7a را در گروهی که از متفورمین برای درمان استفاده کرده بودند، نسبت به گروه کنترل نشان داد (۲۵). این نتایج می‌تواند بر let-7a به عنوان ژن هدف متفورمین، دلالت کند. همچنین این یافته‌ها، می‌تواند علت کاهش سرطان پستان توسط متفورمین را توجیه کند. به نظر می‌رسد، let-7 یک نشانگر مولکولی در سرطان‌های خاص است و این قابلیت را دارد، به عنوان یک روش

[11]Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
[12]c-Jun N-terminal kinases
[13]Extracellular signal-regulated kinases
[14]P38 mitogen-activated protein kinases

[15]Vascular endothelial growth factor
[16]High-mobility group AT-hook 2
[17]Metformin

درمانی در مداوای برخی سرطان‌ها به کار گرفته شود (۲۶).

در زمینه تأثیر فعالیت ورزشی بر let-7 در سرطان پستان، تا به حال تحقیقی صورت نگرفته است. ولی نتایج پژوهش سایمون و همکارانش در سال۲۰۰۶ حاکی از این مطلب است که یکی از دلایل کاهش IL-6، به دنبال تمرین ورزشی در افراد سالم، افزایش let-7 است (۲۶). microRNA let-7 می‌تواند به صورت مستقیم و غیرمستقیم، مانع بیان ژنی IL-6 شود (۲). از آنجایی‌که در پژوهش حاضر نیز، میزان IL-6 کاهش و میزان let-7 افزایش یافت، می‌توان بخشی از کاهش IL-6 را به افزایش let-7 به دنبال تمرین هوازی نسبت داد. همان گونه که اشاره شد، بین IL-6 و let-7 حلقه بازخوردی مثبت وجود دارد، بنابراین، خود کاهش IL-6، می‌تواند باعث افزایش let-7 شده و این حلقه را تشدید کند.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد، تمرین هوازی منظم می‌تواند نقش مؤثری در افزایش میکروlet-7a RNA و نهایتاً کاهش IL-6 در مدل موشی BALB/c داشته باشد و از آنجایی‌که سرکوبی بیان IL-6 در بافت تومور، هدف درمانی برای جلوگیری از رشد تومور می باشد، لذا با توجه به تأثیر تمرین ورزشی در کاهش IL-6، می‌توان ادعا نمود تمرین منظم ورزشی می‌تواند حداقل درمدل موشی سرطان‌های وابسته به گیرنده‌ی استروژن، نقش درمانی داشته باشد. درکل یافته‌های این تحقیق هم‌راستا با نتایج رو به افزایش اخیر، مبنی بر مؤثر بودن تمرین ورزشی بر سرطان پستان، پیشنهاد می‌کند تمرین منظم هوازی می‌تواند به عنوان یک روش درمانی مکمل، در کنار سایر روش‌های درمانی سرطان پستان، به کار گرفته شود، اما برای درک بهتر سازوکارهای مولکولی و سلولی درگیر در ارتباط با اثرات مفید تمرینات منظم ورزشی بر بافت توموری، در سرطان پستان، مطالعات بیشتری باید انجام شود.

تقدیر و تشکر

این پژوهش با حمایت مالی دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران و همکاری دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است که بدین وسیله از تمامی افرادی که در انجام این پژوهش همکاری نموده‌اند، تقدیر و تشکر می‌شود. همچنین، از دکتر لاناری اهدا کننده رده سلولی از موسسه پزشکی آرژانتین تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. Carcinogenesis 2009; 30(7):1073-81.

2. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. An epigenetic switch involving NF-κB, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation. Cell 2009; 139(4):693-706.

3. Hong DS, Angelo LS, Kurzrock R. Interleukin-6 and its receptor in cancer. Cancer 2007; 110(9):1911-28.

4. Thompson HJ, Jiang W, Zhu Z. Candidate mechanisms accounting for effects of physical activity on breast carcinogenesis. IUBMB life 2009; 61(9): 895-901.

5. Ligibel JA, Giobbie-Hurder A, Olenczuk D, Campbell N, Salinardi T, Winer EP, et al. Impact of a mixed strength and endurance exercise intervention on levels of adiponectin, high molecular weight adiponectin and leptin in breast cancer survivors. Cancer Causes & Control 2009; 20(8):1523-8.

6. Zielinski MR, Muenchow M, Wallig MA, Horn PL, Woods JA. Exercise delays allogeneic tumor growth and reduces intratumoral inflammation and vascularization. Journal of Applied Physiology 2004; 96(6): 2249-56.

7. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux T, McClellan J, Steiner J, Carmichael M, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. Cytokine 2011; 55(2):274-9.

8. Woods JA, Vieira VJ, Keylock KT. Exercise, inflammation, and innate immunity.

Immunology and allergy clinics of North America 2009; 29(2):381-93.

9. Fernandes-Silva MM, Carvalho VO, Guimarães GV, Bacal F, Bocchi EA. Physical exercise and microRNAs: new frontiers in heart failure. Arquivos brasileiros de cardiologia 2012; 98(5):459-66.

10. Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. Genome research 2004; 14(10a):1902-10.

11. Deng S, Calin GA, Croce CM, Coukos G, Zhang L. Mechanisms of microRNA deregulation in human cancer. Cell cycle 2008; 7(17):2643-6.

12. Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges. Nature reviews Drug discovery. 2010;9(10):775-89.

13. Ambros V. The functions of animal microRNAs. Nature 2004; 431(7006):350-5.

14. Ross SA, Davis CD. MicroRNA, nutrition, and cancer prevention. Advances in Nutrition: An International Review Journal 2011; 2(6):472-85.

15. Boyerinas B, Park S-M, Hau A, Murmann AE, Peter ME. The role of let-7 in cell differentiation and cancer. Endocrine-related cancer 2010; 17(1):F19-F36.

16. Esquela-Kerscher A, Trang P, Wiggins JF, Patrawala L, Cheng A, Ford L, et al. The let-7 microRNA reduces tumor growth in mouse models of lung cancer. CELL CYCLE-LANDES BIOSCIENCE- 2008; 7(6):759.

17. Barh D, Malhotra R, Ravi B, Sindhurani P. MicroRNA let-7: an emerging next-generation cancer therapeutic. Current Oncology 2010; 17(1):70.

18. amani-shalamzari s, Agha-Alinejad H, alizadeh s, shahbazi s, khatib zk, kazemi a, et al. 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 2014; 17(4):231-6.

19. Lanari C, Lüthy I, Lamb CA, Fabris V, Pagano E, Helguero LA, et al. Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: in vivo and in vitro effects of estrogens and progestins. Cancer research 2001; 61(1): 293-302.

20. Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, Kothadia SM, Keir ST, Freedland SJ, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. Journal of Applied Physiology 2010; 108(2): 343-8.

21. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow?. The Lancet 2001; 357(9255): 539-45.

22. Betof AS, Dewhirst MW, Jones LW. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: A translational perspective. Brain, Behavior, and Immunity 2013; 30: S75-S87.

۲۳. آقاعلی نژاد حمید، توفیقی اصغر، زهیر محمدحسن، مهدوی مهدی، شاهرخی سمیه، اثر تمرین استقامتی پیوسته بر میزان HSP70 و طول عمر موش‌های مبتلا به تومور سرطان سینه. المپیک ۱۳۸۷ ;۱۶(۲):۸۶-۷۵.

24. Verma VK, Singh V, Singh MP, Singh SM. Effect of physical exercise on tumor growth regulating factors of tumor microenvironment: implications in exercise-dependent tumor growth retardation. Immunopharmacology and immunotoxicology 2009; 31(2):274-82.

25. Oliveras-Ferraros C, Cufí S, Vazquez-Martin A, Torres-Garcia VZ, Del Barco S, Martin-Castillo B, et al. Micro (mi) RNA expression profile of breast cancer epithelial cells treated with the anti-diabetic drug metformin: induction of the tumor suppressor miRNA let-7a and suppression of the TGFβ-induced oncomiR miRNA-181a. Cell Cycle 2011; 10(7):1144-51.

26. Simon P, Fehrenbach E, Niess AM. Regulation of immediate early gene expression by exercise: short cuts for the adaptation of immune function. Exerc Immunol Rev 2006; 12:112-31.