University of Birjand

Archive of SID

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport *Research Paper*

Spring & Summer 2020, 8(15): 22-33

Received: Nov 1, 2017 *Accepted: Apr 27, 2018*

Effects of 6 weeks of aerobic training on the level of serum and tumour tissues ghrelin in mice with breast cancer

Marziyeh Shadravan[1], Sadegh Amani-Shalamzari[2*], Ali Sarikhani[3]

1. MSc of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Islamic Azad University, Kerman Branch, Kerman, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran.
3. PhD Student of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Abstract

Background and Aim: Ghrelin has a dual effect on breast cancer development. The aim of this study was to evaluate the effect of aerobic training on the level of serum and tumour tissues ghrelin in mice with breast cancer. **Materials and Methods:** Breast cancer cells MC4-L2 were implanted to mice and they randomly categorized into two groups including control (n=8) and training (n=8) groups. Training group performed progressive aerobic training 5 days per week for 6 weeks on treadmill and control group didn't any training. Tumor volume was measured by a digital caliper weekly. Finally, the mice were sacrificed; serum and tumor tissue were removed and immediately frozen and kept in -70°C. Assay of ghrelin was performed by ELISA kit with code number RAB0207. Independent sample t-test and repeated measure analysis of varicance were used for extraction of results at the significance level of $p<0.05$. **Results**: The results of t-test showed that the level of ghrelin in tumor ($p=0.02$) and serum ($p=0.002$) were significantly lower and higher compared to the control group. In addition, the mice heart to weight ratio was significantly higher in the training group ($p=0.001$) than in the control group. The result of repeated measure ANOVA showed there were significant differences between the two groups in tumor volume and food intake ($p=0.001$). **Conclusion**: According to the finding, aerobic training in tumor bearing mice have a benefits in reducing tumor volume, maintaining food intake and weight by modulating ghrelin levels in tumor tissue and serum.

Keywords: Aerobic training, Estrogen receptor dependent breast cancer, Appetizer peptide.

***Coressponding Author, Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran;**
Email: amani_sadegh@khu.ac.ir **DOI: 10.22077/JPSBS.2019.1062.1325**

www.SID.ir

نشریه مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش مقاله پژوهشی
بهار و تابستان ۱۳۹۹، دوره ۸، شماره ۱۵، ص ۳۳-۲۲
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۷
Acchive of SID

اثر ۶ هفته تمرین هوازی بر سطوح گرلین در بافت تومور و سرم موش‌های مبتلا به سرطان پستان

مرضیه شادروان[۱]، صادق امانی شلمزاری[۲*]، علی ساریخانی[۳]

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، کرمان، ایران.
۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران.
۳. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: گرلین نقش دوگانه‌ای در توسعه سرطان پستان دارد. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تمرینات هوازی بر سطوح سرمی و بافتی گرلین در موش‌های حامل سرطان پستان بود. **روش‌تحقیق:** تومور سرطان پستان وابسته به گیرنده استروژن ناشی از سلول سرطانی MC4-L2 به ۱۶ سر موش بالب-C پیوند زده شد و در ادامه موش ها به صورت تصادفی در دو گروه کنترل (۸ سر) و تمرین (۸ سر) قرار گرفتند. گروه تمرین به مدت ۶ هفته، ۵ روز در هفته تمرینات هوازی فزآینده روی نوارگردان را اجرا کردند و گروه کنترل هیچ‌گونه فعالیتی انجام ندادند. حجم تومور موش‌ها به صورت هفتگی با کالیپر دیجیتال اندازه‌گیری شد. در پایان موش‌ها قربانی شده و سرم و بافت تومور آن ها برداشته شد و در دمای $-۷۰^{o}C$ نگهداری گردید. سنجش گرلین با استفاده از کیت الایزا با کد RAB0207 صورت گرفت. از آزمون t مستقل و تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر برای تحلیل و تفسیر یافته‌ها استفاده شد و سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. **یافته‌ها:** بر اساس نتایج آزمون t مستقل، مقدار گرلین درون تومور ($p=۰/۰۲$) و سرم ($p= ۰/۰۰۲$) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به ترتیب پایین‌تر و بالاتر بود. به علاوه، نسبت وزن قلب به وزن موش‌ها ($p=۰/۰۰۱$) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معنی دار بالاتر بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر نیز برای حجم تومور و غذای مصرفی حاکی از اختلاف معنی‌دار بین دو گروه بود ($p=۰/۰۰۱$). **نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج بدست آمده، تمرینات هوازی در موش‌های حامل تومور، از طریق تعدیل سطوح گرلین در بافت تومور و سرم، اثرات مفیدی در کاهش حجم تومور، حفظ مصرف غذا و کنترل وزن دارد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، سرطان پستان وابسته به گیرنده استروژن، پپتید اشتهاآور.

*نویسنده مسئول، آدرس: تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی؛
پست الکترونیک: amani_sadegh@khu.ac.ir
DOI: 10.22077/JPSBS.2019.1062.1325

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سرطان از مشکلات اصلی بهداشتی در سراسر جهان است که خود بیماری و درمان آن عوارض زیادی دارند. یکی از عوارض سرطان، از بین رفتن توده عضلانی و قدرت بدن می‌باشد که با نام کاشکسی[1] شناخته می‌شود. کاشکسی یا ضعف بنیه یکی از عوارض شایع در بیماری سرطان است که ارتباط تنگاتنگی با وضعیت تغذیه‌ای و اشتهای بیماران دارد. کاشکسی از رایج ترین اثرات سرطان‌های بدخیم است که پاسخ به داروهای ضد توموری را کاهش می‌دهد و در افزایش میزان مرگ و میرهای ناشی از سرطان (عامل ۲۰ درصد مرگ‌های سرطانی) نقش دارد. کاشکسی سرطان، یک نوع ناخوشی متابولیکی پیچیده است که تحلیل بافت چربی به علت لیپولیز، تحلیل بافت عضلانی، بالا رفتن هزینه انرژی استراحتی، بی اشتهایی و کاهش مصرف غذا را به همراه دارد (تیسدال[2]، ۲۰۰۹). اگر چه کاتابولیسم بافتی به وسیله فعالیت سایتوکاین‌هایی مانند فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا[3]، اینترلوکین-۱ بتا، اینترلوکین-۶[4] و اینترفرون[5] (آچاریا[6] و دیگران، ۲۰۰۴) صورت می‌گیرد؛ سازوکار کاشکسی در سرطان به طور کامل مشخص نشده است. کاشکسی با سوء تغذیه رابطه دارد؛ که خود پیامد جذب ناکافی غذاها یا رژیم غذایی نامناسب است. بیماران سرطانی دچار سوء تغذیه می شوند و تمایلی برای مصرف غذا از خود نشان نمی‌دهند. لذا شرایط بروز ضعف و تحلیل عضلانی فراهم می‌گردد. جذب غذا و هموستاز انرژی به شدت بوسیله هورمون‌ها، نوروپپتایدها و سایتوکاین‌ها تنظیم می‌شود. در میان این میانجی‌ها، گرلین نقش مهمی در اشتها بازی می‌کنند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (راوسین[7] و دیگران، ۲۰۰۱).

گرلین هورمون پپتیدی ۲۸ آمینواسیدی است که عمدتاً در معده تولید می‌شود، اما در روده کوچک، هیوتالاموس، هیپوفیز، پانکراس و در سیستم ایمنی نیز تولید می‌گردد (کوجیما[8] و دیگران، ۱۹۹۹). این هورمون نقش مهمی در تنظیم اشتها دارد و تجویز آن، موجب کسب وزن با افزایش مصرف غذا و بازداری از عملکرد لپتین می‌گردد. گرلین عملکردش را از طریق گیرنده‌های G پروتئین[9] به انجام می‌رساند؛ عاملی که خود پیام‌برهای ثانویه درون سلولی مانند آدنوزین مونوفسفات حلقوی[10] (cAMP) و کلسیم را القا می‌کند. یکی از عملکردهای گرلین تحریک تکثیر سلولی و تولید شیر در پستان است. این عملکرد در ترکیب با اثر تحریکی تولید هورمون رشد، گرلین را به عنوان عامل بالقوه در تومورزایی معرفی کرده است (چاپین[11] و دیگران، ۲۰۱۱). سطوح گرلین به طور مثبت با ابتلا به مریضی‌هایی مانند نارسایی قلبی و سرطان رابطه دارد. استفاناکی[12] و دیگران (۲۰۱۲) گرلین را به عنوان مولکولی جدید برای پیشگیری، تشخیص و درمان سرطان پستان معرفی کرده اند. ولف[13] و دیگران (۲۰۰۶) نیز نقش گرلین در کاشکسی سرطان پستان و کولون را تایید کرده و همبستگی قوی را بین سطوح گرلین و کاشکسی در زنان (در مقایسه با مردان) نشان داده اند. گرلین در بافت تومور، در تکثیر سلول‌های سرطانی غدد پستان و تهاجم آن ها نقش مهمی دارد. هم‌چنین گرلین در بازداری از آپوپتوزیس[14] نقش دارد و از این رو، عامل مهمی در متاستاز سلول‌های سرطانی عامل مهمی بشمار می رود (چاپین و دیگران، ۲۰۱۱).

علاوه بر شواهدی که در رابطه با تاثیر روانی تمرینات ورزشی در بیماران سرطانی وجود دارد، امروزه در کشورهای در حال توسعه به تمرینات بدنی، با رویکرد درمانی نگاه می‌کنند و محققان آن را به عنوان روشی ساده و کم هزینه برای پیشگیری و بهبود بیماری‌های التهابی مزمن معرفی می‌کنند. فعالیت بدنی به عنوان یک مداخله بی‌خطر در بهبود کیفیت زندگی افراد مبتلا به سرطان پذیرفته شده است. استفاده از مدل‌های حیوانی برای فهم مکانیزم‌های مرتبط با فعالیت بدنی و سرطان مهم هستند، زیرا مطالعات اپیدمیولوژیک که روی نمونه‌های انسانی صورت می‌گیرند، جزئیات مربوط به آغاز، پیشرفت یا بهبود سرطان مرتبط با ورزش را نشان نمی‌دهند. تحقیقات انجام شده نشان از کاهش حجم تومور به دنبال فعالیت منظم ورزشی دارد (زیلنسکی[15]

1. Cachexia
2. Tisdale
3. Tumor necrosis factor alpha
4. Interlukine-6
5. Interferon
6. Acharyya
7. Ravussin
8. Kojima
9. G protein–coupled receptor
10. Cyclic adenosine monophosphate
11. Chopin
12. Stefanaki
13. Wolf
14. Apoptosis
15. Zielinski

www.SID.ir

Archive of SID

و دیگران، ۲۰۰۴؛ جونز[1] و دیگران، ۲۰۰۵؛ هافمن-گوتز[2] و دیگران، ۱۹۹۴). خوری و دیگران (۲۰۱۵) و عیسی نژاد و دیگران (۲۰۱۶) کاهش حجم تومور به دنبال انجام ۶ هفته تمرینات تناوبی را به تعدیل وضعیت آپوپتوزی درون تومور به ویژه ریز RNAs[3] و همین طور تغییر در بیان گیرنده استروژن نسبت داده‌اند. از طرف دیگر، مشخص شده که فعالیت بدنی نقش موثری در حفظ توده عضلانی و تعدیل متابولیکی مصرف گلوکز دارد و از این رو، در تعدیل وضعیت مولکولی کاشکسی نیز نقش دارد. با توجه به این که فعالیت بدنی منظم باعث افزایش جزئی در دریافت انرژی به علت افزایش هورمون گرلین سرمی می‌شود (غیاثوند و دیگران، ۲۰۱۳)، و با توجه به تاثیر سطوح درون توموری این سایتوکاین در پیشرفت سرطان و احتمالا عدم وجود تحقیقی که اثرات تمرینات هوازی را بر سطوح گرلین در بافت تومور و سرمی سنجیده باشد؛ در مطالعه حاضر به دنبال یافتن پاسخ این سوال اساسی هستیم که آیا تمرینات هوازی می‌توانند سطوح گرلین در بافت تومور و همین طور سرم موش‌های مبتلا به سرطان پستان را تغییر دهند؟

روش تحقیق

تحقیق حاضر از نوع تجربی است. ۲۰ سر موش بالب-C[4] پس از القای سرطان پستان با رده سلولی MC4-L2 که از نوع وابسته به گیرنده استروژن است، به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی به مدت ۶ هفته تمرینات استقامتی را اجرا کردند. پس از اتمام دوره تحقیق یک سری متغیرهای مهم اندازه گیری شدند.

ویژگی‌های موش‌ها: موش‌ها از نوع موش‌های ماده ۶ تا ۸ هفته‌ای با وزن ۱۵-۱۴ گرم بودند که از انستیتو پاستور خریداری شدند و به اتاق حیوانات دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردیدند. دوره ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی برای تطابق فیزیولوژیک موش‌ها رعایت گردید. هم‌چنین، دمای اتاق بین درجه ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵ درصد حفظ شد. پس از یک هفته آشناسازی با محیط و تمرین روی نوارگردان، سلول‌های سرطانی به موش‌ها تزریق گردید و ۱۰ روز پس از آن، برنامه تمرین آغاز شد. کد اخلاق از پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی با کد IR.SSRI.REC.1395.129 اخذ گردید.

کشت سلول: کارسینومای مجاری پستان گیرنده استروژن مثبت (ER+) MC4-L2 از مرکز ذخایر ژنتیک ایران خریداری شد. سلول‌های MC4-L2 در فلاسک T75 در محیط DMEM/F-12 با ۱۵ میلی مول بافر HEPES، گلوتامین، پنی‌سلین ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر، استراپتومایسن ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر و FBS ۱۰ درصد کشت داده شدند. پس از پرکردن ۹۰ درصد سطح فلاسک بوسیله سلول‌ها، مایع رویی برداشت شد و پس از شستشو با PBS، در مرحله بعد با آنزیم تریپسین[5] ۰/۰۲۵ از کف پلیت سلول‌ها جدا شده و پس از خنثی سازی آنزیم با محیط حاوی FBS 10 درصد، کلیه محتویات فلاسک داخل لوله فالکون ریخته شد و در دور ۱۲۰۰ به مدت ۵-۳ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در مرحله بعد، مایع روئی برداشته شد و پلاک سلولی در داخل محیط حاوی FBS 10 درصد حل گردید. سپس برای تعیین نسبت سلول های زنده مانده و شمارش سلولی به ترتیب از تریپان آبی[6] و لام شمارش سلول[7] استفاده شد (امانی شلمزاری و دیگران، ۲۰۱۴).

برای القای تومور، پس از کشت سلول و شمارش آن، سوسپانسیون سلولی با تراکم ۱۰ میلیون سلول در هر میلی لیتر بافر PBS تهیه گردید. موش‌ها در ابتدا با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین[8] و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم زایلازین[9] که به صورت درون صفاقی به آن ها تزریق شد، بی‌هوش شدند و سپس یک میلیون سلول به صورت زیر جلدی به ناحیه بالای ران سمت راست تزریق گردید (امانی شلمزاری و دیگران، ۲۰۱۴). در حدود دو هفته پس از تزریق سلول‌های سرطانی، تومور در ناحیه تزریق شده قابل لمس بود.

پروتکل تمرین استقامتی: ابتدا موش‌ها به دو گروه تقسیم شدند. گروه استراحت- تومور یا گروه کنترل (CT) که شامل ۱۰ سر موش بودند و هیچ گونه فعالیت بدنی تا زمان قربانی شدن، انجام ندادند. دومین گروه تومور- ورزش یا گروه تمرین (ET) بود که به مدت ۶ هفته، ۵ روز در هفته و با شدت متوسط تمرینات استقامتی را اجرا کرد. در انتهای هفته آشناسازی، آزمون تعیین توان هوازی بیشینه موش‌ها به عمل آمد (هایز و چاپل[10]، ۱۹۹۰)؛

1. Jones
2. Hoffman-Goetz
3. microRNAs
4. Balb-C
5. Trypsin enzyme
6. Blue Trypan
7. Hemocytometer
8. Ketamine
9. Xylazine
10. Hayes & Chappell

www.SID.ir

Archive of SID

روش کار بدین صورت بود که بعد از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۲-۱۰ متر بر دقیقه، موش ها با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه شروع به فعالیت کردند و هر ۲ دقیقه، یک متر بر دقیقه بر سرعت افزوده شد. حداکثر سرعت زمانی محاسبه گردید که موش‌ها قادر نبودند در آن سرعت بدوند (هویدال[1] و دیگران، ۲۰۰۷). سرعت بیشینه بدست آمده برابر با ۱/۵±۳۳ متر بر دقیقه بود. سپس تمرینات با ۵۵ درصد توان هوازی شروع شد و تا ۷۰ درصد آن ادامه پیدا کرد. جزئیات برنامه تمرین این گونه بود که ۲ هفته اول تمرین به مدت ۵۰ دقیقه با شدت ۵۵ درصد توان هوازی بیشینه (سرعت ۱۸ متر بر دقیقه)، ۲ هفته دوم به مدت ۶۰ دقیقه با شدت ۶۵ درصد توان هوازی بیشینه (۲۰ متر بر دقیقه)، و ۲ هفته آخر به مدت ۷۰ دقیقه با شدت ۷۰ درصد توان هوازی بیشینه (۲۲ متر بر دقیقه)؛ اجرا گردید. شدت تمرین در نظر گرفته شده معادل ۷۰-۵۵ درصد توان هوازی بیشینه موش‌ها بود، زیرا در پژوهش آلمیدا[2] و دیگران (۲۰۰۹) بر روی موش‌های مبتلا به سرطان پستان، نشان داده شده که شدت متوسط ۵۰ درصد باعث کاهش حجم تومور می‌شود و شدت‌های بالاتر از ۸۰ درصد، با افزایش حجم تومور همراه است. به موش‌ها جهت انجام تمرین هیچ‌گونه شوک الکتریکی وارد نشد، اما برای تحریک آن‌ها، چند ضربه به بالای قفسه زده می شد تا شروع به حرکت کنند.

اندازه گیری وزن موش‌ها، وزن غذای مصرفی و حجم تومور: همه حیوانات در ابتدا و به صورت هفتگی با استفاده از ترازو وزن شدند. تغذیه حیوانات با استفاده از غذای طبیعی موش صورت گرفت. میزان غذای حیوانات دو گروه تعدیل شد، به این ترتیب که غذایی که در اوایل هفته به قفس موش‌ها ریخته شد، اندازه‌گیری گردید. در زمان تعویض غذا، میزان غذای باقیمانده هم اندازه گیری شد و با تفریق این دو میزان از یکدیگر، مجموع غذای مصرفی در هر هفته بدست آمد.

حجم تومور در دو بعد اندازه‌گیری شد. بزرگ ترین 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. پس از پیدایش تومور، هر هفته یک‌بار طول و عرض تومور توسط کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول محاسباتی حجم تومور [$V=\pi/6\ (W\times L2)$] میزان آن تعیین گردید (جونز و دیگران، ۲۰۱۰).

اندازه‌گیری وزن قلب و وزن تومور: پس از مرگ آسان موش‌ها که حدود ۴۸ ساعت پس از آخرین وهله تمرین بود، بلافاصله قلب و عضله دوقلو برداشته شد و وزن آن ها با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه گیری شد. وزن قلب بلافاصله پس از خروج خون باقیمانده در آن اندازه گیری گردید. نسبت وزن قلب به وزن بدن به عنوان شاخص کارآیی تمرین در نظر گرفته شد (آلمیدا و دیگران، ۲۰۰۹). نسبت وزن قلب به وزن بدن موش‌ها با تقسیم وزن قلب بر وزن بدن محاسبه گردید.

اندازه گیری گرلین: پس از قربانی نمودن موش‌ها، بلافاصله بافت تومور برداشته شد و در نیتروژن مایع فریز گردید و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. در آزمایشگاه، میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ظرف هموژنایزر حاوی محلول لیزات[3] قرار داده شد، تا بافت کاملاً خرد شده و سپس سوسپانسیون رویی به میکروتیوب جدید منتقل شد و با سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه، ۱۵۰۰ g و ۴ درجه سانتی‌گراد) قطعات بزرگ رسوب کردند و از سوپرناتنت[4] رویی برای اندازه‌گیری پروتئین‌ها به روش برادفورد[5] استفاده گردید. محلول لیزات حاوی KCl، NaCl، Na2HPO4، KH2PO4 و PMSF بود که در ۹۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه حل شد و پس از تنظیم PH (۷/۴- ۷/۲)، با سود یا اسید کلریدریک نرمال، محلول به حجم یک لیتر رسانده شد (امانی شلمزاری، ۲۰۱۴). سنجش گرلین با استفاده از کیت الایزای با کد RAB0207، حساسیت ۱۶۱ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، دامنه تشخیص ۰/۰۱ تا ۱۰۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر، درون سنجی CV<۱۰٪ و برون سنجی CV<۱۵٪ شرکت سیگمای[6] آمریکا صورت گرفت.

روش های آماری: پس از مشاهده توزیع طبیعی داده‌ها که با آزمون شاپیرو–ویلک[7] صورت گرفت؛ از آزمون t مستقل برای بررسی اثر تمرین ورزشی بر متغیرها استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر برای بررسی اثر تمرین بر وزن و حجم تومور موش‌ها استفاده گردید، در صورت وجود اختلاف معنی‌دار از آزمون تعقیبی توکی برای یافتن اختلاف بین دو گروه

1. Høydal
2. Almeida
3. Lezat solution
4. Supernatant
5. Bradford protein assay
6. Sigma company
7. Shapiro-Wilk

www.SID.ir

Archive of SID

بهره برداری شد. رابطه بین متغیرها نیز با مدل رگرسیون خطی تحلیل گردید. همه تحلیل‌ها با نرم افزار SPSS انجام گرفت و سطح معنی‌داری نیز $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

وزن و غذای مصرفی موش ها: وزن بدن موش‌ها به صورت هفتگی اندازه گیری شد و نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر بین وزن دو گروه، تفاوت معنی داری نشان نداد (p=۰/۱۸). وزن غذای دریافتی دو گروه نیز به تفکیک هفته در جدول ۱ نمایش داده شده است. روند کاهشی در دریافت غذا در گروه کنترل و روند افزایشی دریافت غذا در گروه تمرین قابل مشاهده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر اختلاف معنی دار دو گروه را طی ۶ هفته پروتکل تحقیق نیز تایید کرد (p=۰/۰۳)، اختلاف معنی‌دار در هفته‌های پنجم و ششم بین دو گروه مشاهده شد.

جدول ۱. وزن بدن و غذای دریافتی موش‌های طی ۶ هفته برنامه تمرین و نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر

متغیر	گروه ها	هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳	هفته ۴	هفته ۵	هفته ۶
وزن بدن (گرم)	کنترل	۱۷/۸۰ (۱/۰۰)	۱۸/۱۰(۰/۹۰)	۱۸/۶۰(۱۰/۱)	۱۹/ ۱۰(۱/۰۰)	۱۹/ ۶۰(۱۰/۱)	۲۰/۸۰ (۱/۲۰)
	تمرین	۱۷/۸۰ (۰/۷۰)	۱۷/۹۰(۰/۸۰)	۱۷/۸۰(۰/۸۰)	۱۸/۶۰(۰/۸۰)	۱۹/۷۰ (۱/۰۰)	۱۹/۹۰ (۱/۲۰)
تحلیل واریانس با اندازه گیر مکرر: p=۰/۱۸ و F=۲/۳۲							
غذای دریافتی (گرم)	کنترل	۱۶۵/۵۰	۱۶۶	۱۶۲/۸۰	۱۶۰/۲۰	۱۵۵	۱۴۰/۶۰
	تمرین	۱۶۲/۹۰	۱۶۹/۵۰	۱۶۶/۸۰	۱۶۷/۳۰	۱۷۰/۵۰*	۱۷۲*
تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر: p= ۰/۰۳ و F=۶/۳۱، اختلاف در هفته ۵ و ۶ بین دو گروه							

***نشانه اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح p<۰/۰۳. (داده ها به صورت میانگین (انحراف استاندارد) برای وزن بدن و میانگین برای غذای دریافتی بیان شده اند).**

وزن قلب، وزن تومور و نسبت وزن قلب به وزن بدن: در انتهای برنامه تحقیق، وزن تومور و وزن قلب بلافاصله با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد (جدول ۲). نتایج آزمون t مستقل برای وزن تومور نشان داد که وزن تومور کاهش بارزی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل (p=۰/۰۰۱) دارد و در مورد وزن قلب، افزایش بارزی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (p=۰/۰۰۱). از شاخص نسبت وزن قلب به وزن بدن برای کارآیی تمرین استفاده شد و آزمون t مستقل افزایش معنی‌دار در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل را نشان داد (p=۰/۰۰۱).

جدول ۲. وزن قلب، وزن تومور و نسبت وزن قلب به وزن بدن موش‌ها

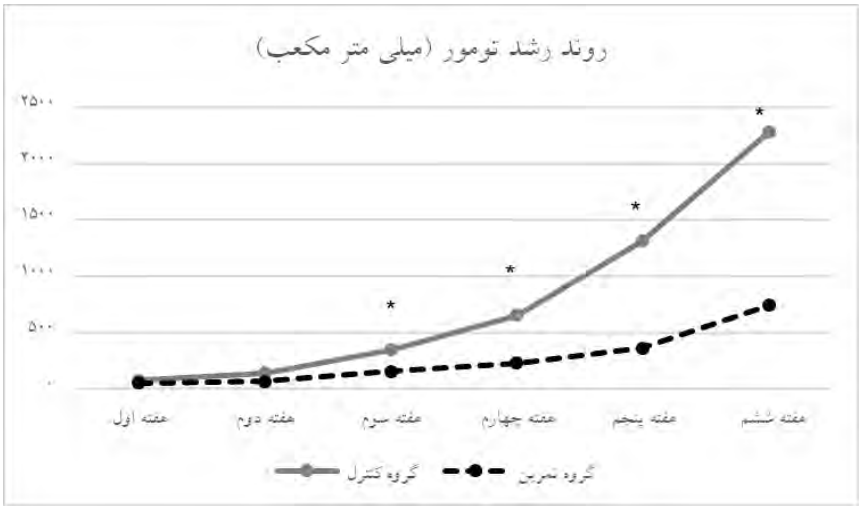
متغیر / گروه ها	وزن قلب (گرم)	وزن تومور (گرم)	نسبت وزن قلب به وزن بدن
گروه کنترل	۰/۱۱ ± ۰/۰۹	۲/۷۴ ± ۰/۵۲	۰/۰۰۴۳۵ ± ۰/۰۰۰۵۶
گروه تمرین	۰/۱۱ ± ۰/۰۱*	۱/۱۱ ± ۰/۵۲*	۰/۰۰۶۰۷ ± ۰/۰۰۰۹۱*

***نشانه اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح p<۰/۰۱.**

www.SID.ir

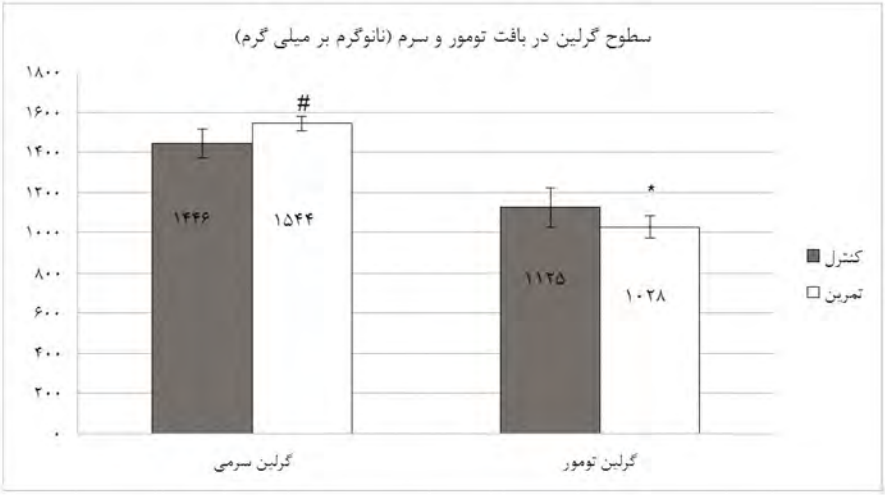
Archive of SID

حجم تومور: نتایج شکل ۱ روند کاهش رشد تومور در گروه تجربی را نشان می‌دهد. نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر حاکی از افزایش بارز با شیب تندتر حجم تومور در گروه کنترل نسبت به گروه تمرین است (F=۴۸/۵، p=۰/۰۰۱). آزمون تعقیبی توکی نشان داد، روند اختلاف از هفته سوم به بعد نمایان می‌گردد (هفته سوم p<۰/۰۱، هفته چهارم تا ششم p<۰/۰۰۱). در این زمان شیب رشد تومور در گروه کنترل روند سریع‌تری پیدا کرده است، در حالی که در گروه تجربی با شیب کندتری افزایش یافته است.



شکل ۱. روند رشد تومور در دو گروه تجربی و کنترل
***نشانه اختلاف معنی دار با گروه تمرین در سطح p<۰/۰۱.**

سطوح گرلین در بافت تومور و سرم: نتایج آزمون t مستقل نشان داد که پس از مداخله تمرین، سطوح سرمی گرلین (t=۵/۸۶؛ p=۰/۰۰۱) در گروه تجربی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دارد (شکل ۲). همچنین نتایج آزمون رگرسیون خطی نشان داد، بین گرلین سرمی و حجم تومور رابطه منفی معنی‌دار (r=-۰/۶۷، p=۰/۰۰۴)؛ اما بین گرلین بافت تومور و حجم تومور رابطه مثبت معنی‌داری (r=۰/۷۲، p=۰/۰۰۲) وجود دارد.



شکل ۲. مقایسه سطوح گرلین در بافت تومور و سرم موش‌های مبتلا به سرطان پستان
*** نشانه اختلاف گرلین تومور دو گروه در سطح p=۰/۰۲؛ # نشانه اختلاف گرلین سرمی دو گروه در سطح p=۰/۰۰۱.**

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در تحقیق حاضر مشاهده شد که ۶ هفته تمرین هوازی فزآینده موجب کند شدن رشد تومور می شود. این روند کاهشی همسو با کاهش میزان سطوح گرلین در بافت تومور بود. افزایش سطوح گرلین در سرم موش‌ها همسو با جذب غذای بیشتر در موش‌های گروه تمرین بود و به نظر می‌رسد که گرلین در حفظ اشتهای موش‌های سرطانی نقش دارد. با توجه به بالاتر بودن نسبت وزن قلب به وزن بدن موش‌ها، می‌توان نتایج مشاهده شده را به تمرینات هوازی نسبت داد.

در سال‌های اخیر برخی تحقیقات کاهش حجم تومور را بدنبال اجرای فعالیت ورزشی منظم گزارش کرده‌اند (امانی شلمزاری و دیگران، ۲۰۱۴؛ جونز و دیگران، ۲۰۱۰). در مطالعه حاضر نیز کاهش حجم تومور در گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در حقیقت، از هفته سوم تمرین هوازی، روند کند رشد تومور در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار شد و از این هفته تا هفته ششم، حجم تومور بین دو گروه تفاوت معنی‌داری داشت. ریز محیط تومور حاوی سلول‌های مختلفی می‌باشد که رابطه تنگاتنگی با یکدیگر دارند و در رشد تومور موثر هستند. این سلول‌ها با تولید عوامل و پپتیدهای رشدی و رگ‌زایی، موجب رشد و گسترش تومور را فراهم می‌آورند (باکویل و مونتوانی[1]، ۲۰۱۲). مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته است نتایج ناهمسویی داشته‌اند، بیشتر تحقیقات اخیر کاهش حجم تومور را گزارش کرده‌اند. آلمیدا و دیگران (۲۰۰۹) اثر ۶ هفته تمرین شنا کردن با دو شدت مختلف را بر تغییرات بافت تومور در موش‌های توموری بررسی کرده‌اند و نشان داده‌اند که تمرین استقامتی موجب کاهش معنی‌دار حجم تومور می‌شود؛ تغییری که به کاهش تجمع نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها در ریزمحیط بافت تومور نسبت داده می شود. مورفی[2] و دیگران (۲۰۱۱) کاهش حجم تومور پس از ۲۰ هفته تمرین در موش‌های سرطانی را به افت عوامل التهابی سرمی نسبت داده‌اند. در تحقیقات داخل کشور نیز کاهش حجم تومور با تمرینات استقامتی گزارش شده است. امانی شلمزاری و دیگران (۲۰۱۴) کاهش حجم تومور در پی تمرینات استقامتی را به کاهش سایتوکاین‌های التهابی و رگ‌زا نسبت داده‌اند. خوری و دیگران (۲۰۱۵) نیز کاهش بیان miR-21 که نقش بارزی در فرآیند ضد آپوپتوزی دارد را عامل کاهش حجم تومور با تمرینات ورزشی دانسته‌اند.

علیرغم این ها، برخی بررسی ها نیز بی اثر بودن تمرینات ورزشی بر حجم تومور را گزارش کرده‌اند. به طور مثال، وودس[3] و دیگران (۱۹۹۴) در مطالعه ای موش‌های مبتلا به سرطان سینه را با دو شدت متوسط و بالا به مدت ۱۴ روز روی نوارگردان تمرین دادند، اما هیچ تغییر معنی داری در حجم تومور در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل، مشاهده نکردند. دلیل ناهمسویی نتایج تحقیق ذکر شده با مطالعه حاضر احتمالاً به دلیل دوره زمانی کمتر تمرینات می باشد، زیرا مداخله ما ۶ هفته بعد از سرطانی شدن ادامه داشت، اما تمرینات ورزشی در مطالعه وودس و دیگران (۱۹۹۴) کوتاه بود (فقط ۲ هفته). هم‌چنین نوع تومور در دو تحقیق مورد مقایسه متفاوت است؛ به طوری که در تحقیق حاضر از رده سلولی وابسته به گیرنده استروژن استفاده شد، در حالی که در مطالعه وودوس و دیگران (۱۹۹۴)، موش‌ها با مواد شیمیایی سرطانی شدند.

در پژوهش حاضر افزایش سطوح سرمی گرلین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در رابطه اثر فعالیت ورزشی بر سطوح گرلین گردش خون، نتایج ضد و نقیضی موجود است. برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که فعالیت ورزشی کوتاه و بلند مدت هیچ تاثیری بر مقادیر گرلین خون ندارد (تاکانو[4] و دیگران، ۲۰۰۵؛ اسمیت[5] و دیگران، ۲۰۰۴)، در حالی‌که برخی دیگر افزایش مقادیر گرلین را در پاسخ به کاهش وزن ناشی از فعالیت ورزشی نشان داده‌اند (لیدی[6] و دیگران، ۲۰۰۴؛ فوستر-اسچوبرت[7] و دیگران، ۲۰۰۵). این تفاوت را می توان به نسبت توده بدون چربی به توده چربی مرتبط دانست، زیرا افزایش متابولیسم پایه در تحریک تولید گرلین نقش دارد (کینگ[8] و دیگران، ۲۰۱۳). همسو با نتایج ما، راوسین[9] و دیگران (۲۰۰۱) نیز گزارش کرده‌اند که ۹۳ روز فعالیت دوچرخه سواری، گرلین پلاسمایی حالت ناشتایی را در مردان جوان سالم ۲۶ درصد افزایش می‌دهد.

نکته جالب توجه در مطالعه، عدم اختلاف معنی‌دار در وزن دو گروه است، در حالی که میزان غذای مصرفی دو گروه تفاوت معنی‌داری داشت. گروه تمرین مصرف غذای خود را حفظ کرد، در صورتی که گروه کنترل به مرور زمان اشتهای خود را از دست داد.

1. Balkwill & Mantovani
2. Murphy
3. Woods
4. Takano
5. Schmidt
6. Leidy
7. Foster-Schuber
8. King
9. Ravussin

www.SID.ir

Archive of SID

این از دست دادن اشتها و مصرف کردن غذا در گروه کنترل و همین طور حفظ غذای مصرفی، با سطوح پلاسمایی گرلین رابطه معنی‌داری داشت. جالب توجه این بود که افزایش سطوح گرلین سرمی با کاهش حجم تومور نیز رابطه منفی داشت. در واقع، تمرینات استقامتی از طریق بالا بردن گرلین سرمی، اشتهای موش‌های سرطانی کاشکسی شده را حفظ کرد، تغییری که متعاقب آن توده بدنی موش‌ها نیز حفظ گردید و از نسبت وزن قلب به وزن موش‌ها می‌توان این مورد را استنباط کرد. همسو با این یافته، نشان داده شده در موش حمل کننده تومور ایجاد کننده کاشکسی، دوز بالای گرلین (۴۰ میکروگرم در روز) جذب غذا و وزن بدن را افزایش می‌دهد (وانگ[1] و دیگران، ۲۰۰۶). تجویز گرلین و آنالوگ گرلین مصنوعی با تزریق زیرجلدی مستمر به موش‌های صحرایی حمل کننده تومور القا کننده کاشکسی، باعث افزایش بارزی در مصرف غذا و کسب وزن از طریق حفظ توده بدون چربی بدن گردیده است (دی‌بور[2] و دیگران، ۲۰۰۷). حیوانات درمان شده با گرلین، افزایش بارزی در بیان پپتیدهای اشتها آور مانند پپتید مربوط به آگوتی[3] و پپتید عصبی-Y[4] را نشان داده‌اند (دی‌بور و دیگران، ۲۰۰۷). پپتیدهای اشتها آور در حفظ میل به غذا و وزن بدن موثرند. در کل، می‌توان اذعان نمود که تمرین هوازی یکی از اثرات بارز در حفظ وزن بدن و جلوگیری از اثرات کاشکسی را از طریق افزایش تولید گرلین اعمال می‌کند. در واقع، انجام تمرین استقامتی در موش‌های سرطانی موجب افزایش تولید گرلین و دیگر پپتیدهای اشتها آور می‌گردد و از اثرات کاشکسی مانند ضعف بدنی، لاغری مفرط، از دست رفتن توده چربی و بدون چربی؛ جلوگیری می‌کند.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که ۶ هفته تمرینات استقامتی باعث کاهش معنی‌دار سطوح گرلین در بافت تومور می‌گردد. مطالعات اندکی به بررسی تغییرات گرلین در بافت تومور پرداخته‌اند. بیان گرلین در سرطان‌های کولورکتال[5]، معده، پروستات و پستان نشان داده شده است (چاپین و دیگران، ۲۰۱۱). نتایج حاصل از تحقیق حاضر با نتایج کاسانی[6] و دیگران (۲۰۰۱) همسو است. آن ها برای اولین بار نشان دادند که گرلین و گیرنده‌اش، در انواع تومورهای غدد درون ریز و غیر غددی وجود دارند و تکثیر سلول‌های سرطانی را کنترل می‌کنند. همچنین مطالعه مذکور نشان داد که گرلین و گیرنده‌های خاص آن، در پیشرفت کارسینومای پستان انسان نقش دارند (کاسانی و دیگران، ۲۰۰۱). جفری[7] و دیگران (۲۰۰۵) نیز نشان داده‌اند که گرلین از طریق تحریک کردن تکثیر سلولی و احتمالاً بواسطه سازوکارهای اتوکرین/پاراکرین، در سرطان پستان نقش دارد. از طرف دیگر، این مطالعه نشان داد که بیان گرلین در سرطان پستان، بیشتر از بافت سالم پستان است، از این رو محققین گزارش کردند که گرلین تکثیر سلول‌های سرطان پستان را افزایش می‌دهد. ما نیز وجود گرلین در بافت تومور پستان را نشان دادیم. یافته جالب توجه این بود که در اثر تمرینات ورزشی، میزان گرلین در بافت تومور کاهش پیدا کرد و این تغییر، با کاهش حجم تومور همسو بود. نتیجه آن که می توان یکی از سازوکارهای کاهش رشد تومور را کاهش مقدار گرلین تومور دانست. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که گرلین درون تومور در بیشتر روندهای سرطان‌زایی درگیر است. مشخص شده است که گرلین در آپوپتوزیس، متاستاز، تهاجم و تکثیر سلولی نقش دارد (چاپین و دیگران، ۲۰۱۱). امکان دارد که اثر گرلین در سرطان پستان وابسته به دوز باشد و به وجود هورمون‌های دیگر مانند هورمون رشد بستگی دارد. محور گرلین/هورمون رشد به طور قطع در تومورزایی و پاتوژنز سرطان پستان نقش دارد (چاپین و دیگران، ۲۰۱۱). در کل، به نظر می‌رسد که سطوح گرلین درون تومور بر خلاف سطوح پلاسمایی آن، اثرات منفی دارد و در درون تومور، به علت پیام‌رسانی و همکاری با هورمون رشد، در پیشرفت سرطان تاثیر می گذارد. با این حال هنوز سازوکار نقش آن به طور کامل مشخص نشده و نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

یکی از نتایج جالب توجه تحقیق حاضر، معنی دار بودن تفاوت بین نسبت وزن قلب به وزن بدن موش‌های گروه تمرین نسبت به گروه کنترل بود. این شاخص نشان دهنده کارآیی تمرین است (آلمیدا و دیگران، ۲۰۰۹). در واقع تمرین هوازی با شدت متوسط توانست اثرات خود را بر ساختارهای تمرین پذیر مانند قلب بگذارد و می‌توان گفت تمرین هوازی با شدت متوسط در موش‌های حامل تومور، موثر بوده است و تغییرات ایجاد شده در سطح گرلین در بافت تومور و سرم و همین طور تغییر در وزن بدن و دریافت غذای مصرفی را می‌توان به تمرین استقامتی نسبت

1. Wang
2. De Boer
3. Agouti-related peptide
4. Neuropeptide Y
5. Colorectal
6. Cassoni
7. Jeffery

www.SID.ir

داد. یکی از سازگاری‌های مهم تمرین هوازی، هایپرتروفی برونگرای قلب می‌باشد. کاشکسی موجب کاهش توده عضلانی و توده چربی و همین طور کاهش توده قلب می‌گردد. از آنجا که وزن قلب در اوایل دوره اندازه گیری نشد و تنها در پایان اجرای برنامه، بعد از مرگ آسان موش‌ها بررسی شد؛ این احتمال وجود دارد که یا تمرین موجب هایپرتروفی برونگرای قلب شده و یا حداقل از آتروفی آن جلوگیری کرده است؛ تغییراتی که در گروه کنترل مخالف آن رخ داده است.

نتیجه گیری: با توجه به اینکه سرکوبی پپتیدهای اشتها آور مانند گرلین یکی از اثرات جانبی سرطان پستان می‌باشد، افزایش ترشح گرلین با فعالیت بدنی منظم می‌تواند در جلوگیری از آتروفی و کاشکسی سرطان موثر باشد. لذا می‌توان با احتیاط انجام فعالیت‌های هوازی را به بیماران مبتلا به سرطان پستان وابسته به استروژن توصیه کرد.

قدردانی و تشکر

از انستیتو پاستور و آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس به دلیل کمک و همراهی در تهیه و نگهداری موش ها تشکر می‌شود.

منابع

Acharyya, S., Ladner, K. J., Nelsen, L. L., Damrauer, J., Reiser, P. J., Swoap, S., & Guttridge, D. C. (2004). Cancer cachexia is regulated by selective targeting of skeletal muscle gene products. *The Journal of Clinical Investigation, 114***(3), 370-378**.

Almeida, P. W. M., Gomes-Filho, A., Ferreira, A. J., Rodrigues, C. E. M., Dias-Peixoto, M. F., Russo, R. C., ... & Garcia, A. M. (2009). Swim training suppresses tumor growth in mice. *Journal of Applied Physiology, 107***(1), 261-265.**

Amani Shalamzari, S., Agha-Alinejad, H., Alizadeh, S., Shahbazi, S., Kashani Khatib, Z., Kazemi, A., … & Minayi, N. (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), 231-236**.

Balkwill, F. R., & Mantovani, A. (2012). Cancer-related inflammation: common themes and therapeutic opportunities. *Seminars in Cancer Biology, 22***(1), 33-40**.

Cassoni, P., Papotti, M., Ghè, C., Catapano, F., Sapino, A., Graziani, A., … & Muccioli, G. (2001). Identification, Characterization, and Biological Activity of Specific Receptors for Natural (Ghrelin) and Synthetic Growth Hormone Secretagogues and Analogs in Human Breast Carcinomas and Cell Lines. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 86***(4), 1738-1745**.

Chopin, L., Walpole, C., Seim, I., Cunningham, P., Murray, R., Whiteside, E., … & Herington, A. (2011). Ghrelin and cancer. *Molcular and Cellular Endocrinology, 340***(1), 65-69**.

DeBoer, M. D., Zhu, X. X., Levasseur, P., Meguid, M. M., Suzuki, S., Inui, A., ... & Culler, M. D. (2007). Ghrelin treatment causes increased food intake and retention of lean body mass in a rat model of cancer cachexia. *Endocrinology, 148***(6), 3004-3012.**

Foster-Schubert, K. E., McTiernan, A., Frayo, R. S., Schwartz, R. S., Rajan, K. B., Yasui, Y., ... & Cummings, D. E. (2005). Human plasma ghrelin levels increase during a one-year exercise program. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 90***(2), 820-825.**

www.SID.ir

Ghiasvand, R., Hariri, M., Haghighatdost, F., & Darvishi, I. (2013). The effect of exercise on appetite, ghrelin serum levels: implications for obesity treatment. *Health System Research Journal*, *9***(3), 11.**

Hayes, J., & Chappell, M. (1990). Individual consistency of maximal oxygen consumption in deer mice. *Functional Ecology*, **495-503**.

Hoffman-Goetz, L., May, K., & Arumugam, Y. (1994). Exercise training and mouse mammary tumour metastasis. *Anticancer Research, 14*(**6B), 2627-2631**.

Høydal, M. A., Wisløff, U., Kemi, O. J., & Ellingsen, Ø. (2007). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, 14*(**6), 753-760**.

Isanejad, A., Alizadeh, A. M., Shalamzari, S. A., Khodayari, H., Khodayari, S., Khori, V., & Khojastehnjad, N. (2016). Micro RNA-206, let-7a and microRNA-21 pathways involved in the anti-angiogenesis effects of the interval exercise training and hormone therapy in breast cancer. *Life Sciences*, *151*, **30-40.**

Jeffery, P., Murray, R., Yeh, A., McNamara, J., Duncan, R., Francis, G., … & Chopin, L. (2005). Expression and function of the ghrelin axis, including a novel preproghrelin isoform, in human breast cancer tissues and cell lines. *Endocrine-Related Cancer, 12*(**4), 839-850.**

Jones, L. W., Eves, N. D., Courneya, K. S., Chiu, B. K., Baracos, V. E., Hanson, J., … & Mackey, J. R. (2005). Effects of exercise training on antitumor efficacy of doxorubicin in MDA-MB-231 breast cancer xenografts. *Clinical Cancer Research, 11*(**18), 6695-6698.**

Jones, L. W., Viglianti, B. L., Tashjian, J. A., Kothadia, S. M., Keir, S. T., Freedland, S. J., … & Dewhirst, M. W. (2010). Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. *Journal of Applied Physiology, 108*(**2), 343-348.**

Jones, L. W., Viglianti, B. L., Tashjian, J. A., Kothadia, S. M., Keir, S. T., Freedland, S. J., ... & Dewhirst, M. W. (2010). Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. *Journal of Applied Physiology, 108*(**2), 343-348.**

King, J. A., Wasse, L. K., Stensel, D. J., & Nimmo, M. A. (2013). Exercise and ghrelin. A narrative overview of research. *Appetite, 68*, **83-91.**

Khori, V., Shalamzari, S. A., Isanejad, A., Alizadeh, A. M., Alizadeh, S., Khodayari, S., ... & Khaniki, M. (2015). Effects of exercise training together with tamoxifen in reducing mammary tumor burden in mice: Possible underlying pathway of miR-21. *European Journal of Pharmacology, 765*, **179-187.**

Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., & Kangawa, K. (1999). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature, 402*(**6762**), **656-660.**

Leidy, H., Gardner, J., Frye, B., Snook, M., Schuchert, M., Richard, E., & Williams, N. (2004). Circulating ghrelin is sensitive to changes in body weight during a diet and exercise program in normal-weight young women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 89*(**6), 2659-2664**.

www.SID.ir

Archive of SID

Murphy, E. A., Davis, J. M., Barrilleaux, T. L., McClellan, J. L., Steiner, J. L., Carmichael, M. D., ... & Green, J. E. (2011). Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine, 55***(2), 274-279.**

Ravussin, E., Tschöp, M., Morales, S., Bouchard, C., & Heiman, M. L. (2001). Plasma ghrelin concentration and energy balance: overfeeding and negative energy balance studies in twins. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 86***(9), 4547-4547.**

Schmidt, A., Maier, C., Schaller, G., Nowotny, P., Bayerle-Eder, M., Buranyi, B., ... & Wolzt, M. (2004). Acute exercise has no effect on ghrelin plasma concentrations. *Hormone and Metabolic Research, 36***(03), 174-177.**

Stefanaki, C., Rorris, F. P., & Stamatakos, M. (2012). The Role of Ghrelin Signals in Breast Cancer-A Systematic Review. *Current Signal Transduction Therapy, 7***(3), 247-253**.

Takano, H., Morita, T., Iida, H., Asada, K. I., Kato, M., Uno, K., ... & Eto, F. (2005). Hemodynamic and hormonal responses to a short-term low-intensity resistance exercise with the reduction of muscle blood flow. *European Journal of Applied Physiology, 95***(1), 65-73.**

Tisdale, M. J. (2009). Mechanisms of cancer cachexia. *Physiological Reviews, 89***(2), 381-410**.

Wang, W., Andersson, M., Iresjo, B., Lonnroth, C., & Lundholm, K. (2006). Effects of ghrelin on anorexia in tumor-bearing mice with eicosanoid-related cachexia. *International Journal of Oncology, 28***(6), 1393-1400**.

Wolf, I., Sadetzki, S., Kanety, H., Kundel, Y., Pariente, C., Epstein, N., ... & Shimon, I. (2006). Adiponectin, ghrelin, and leptin in cancer cachexia in breast and colon cancer patients. *Cancer, 106***(4), 966-973.**

Woods, J. A., Davis, J. M., Kohut, M. L., Ghaffar, A., Mayer, E. P., & Pate, R. R. (1994). Effects of exercise on the immune response to cancer. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 26***(9), 1109.**

Zielinski, M. R., Muenchow, M., Wallig, M. A., Horn, P. L., & Woods, J. A. (2004). Exercise delays allogeneic tumor growth and reduces intratumoral inflammation and vascularization. *Journal of Applied Physiology, 96***(6), 2249-2256.**

www.SID.ir