Archive of SID

Iranian Quarterly Journal of Breast Disease. 2020; 13(2):59-68.

Original Article

The Effect of Endurance Training Along with Curcumin on VEGF-A Level and *VEGFR* Gene Expression in Cancer Tissue of Female Mice with Breast Cancer

Kouchaki Langroudi F[1], Peeri M[2*], Azarbayjani M A[2], Delfan M[3]

[1]Ph.D. Student of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran
[2]Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran
[3]Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University

Receive: 6/1/2020
Accepted: 11/2/2020

[*]**Corresponding Author:**
m.peeri@iauctb.ac.ir

Ethics Approval:
IR.SSRI.REC.1398.620

Abstract

Introduction: Breast cancer is the most common cancer and leading cause of death among women worldwide. The aim of the present study was to determine synergistic effects of 5 weeks of endurance training along with curcumin on cancer progression, levels of VEGF-A, and gene expression of *VEGFR* in cancer tissue of female Mice with breast cancer.

Methods: The present study was an experimental study. Forty female BALB/c mice were transplanted with 4T1 tumors and randomly divided into four groups including an endurance training group (E) (5 weeks, five days a week), a curcumin group (CC), an endurance training along with curcumin (E-C), and a control group (C). All animals were killed 24 hours following the last training session, and tumors were immediately extracted. Levels of VEGF-A and gene expression of *VEGFR* were determined by a western blot and quantitative real-time PCR, respectively. Data were analyzed with a one-way analysis of variance. The level of significance was set at 0.05.

Results: The results of the present study showed a significant decrease in cancer progression ($p < 0.001$), tumor levels of VEGFA ($p < 0.001$), and *VEGFR* expression ($p < 0.001$) in the E, CC, and—especially—E-C groups compared with the control group.

Conclusion: It seems that 5 weeks of endurance training in combination with curcumin supplementation may have greater inhibitory effect on angiogenesis mechanisms, including VEGF-A/VEFR axis, resulting in greater decrease in cancer progression in mice with breast cancer in comparison with E and CC groups.

Keywords: Endurance Training, Curcumin, Breast Cancer, VEGF-A, VEGFR, Angiogenesis

www.SID.ir

Archive of SID

فصلنامه بیماری های پستان ایران
۶۸-۶۰ :(۲)۱۳ ؛۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

تاثیر تمرین استقامتی به همراه مکمل یاری کورکومین بر سطوح پروتئینی VEGF-A و بیان ژن VEGF-r در بافت سرطان موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان

فرامرز کوچکی لنگرودی[۱]، مقصود پیری[۲*]، محمد علی آذربایجانی[۲]، مریم دلفان[۳]

[۱] دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۳] گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا(س)، تهران، ایران

تاریخ ارسال: ۹۸/۱۰/۱۷
تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۲۳

* **نویسنده مسئول:**
m.peeri@iauctb.ac.ir

چکیده

مقدمه: سرطان پستان شایع‌ترین و مهم‌ترین عامل مرگ و میر زنان در سراسر دنیا به شمار می‌رود. هدف مطالعه حاضر تعیین تاثیر برآیندی ده هفته تمرین استقامتی به همراه مکمل یاری کورکومین بر رشد سرطان، سطوح پروتئین VEGF-A و بیان ژن VEGF-r در بافت سرطان موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان بود.

روش بررسی: پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. ۴۰ سر موش ماده آزمایشگاهی نژاد بالب سی پس از پیوند سرطان پستان 4T1، به چهار گروه تمرین استقامتی (پنج هفته، پنج روز در هفته)، کورکومین، تمرین استقامتی-کورکومین و گروه کنترل تقسیم شدند. همه گروه‌ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی قربانی شدند و بافت تومور پستان بلافاصله جداسازی شد. بیان پروتئین VEGF-A به روش وسترن بلات و بیان ژن VEGF-r به روش qReal time- PCR سنجیده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون One Way ANOVA انجام گردید و معناداری نیز $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج پژوهش حاضر کاهش رشد سرطان ($p<۰/۰۰۱$)، کاهش معنادار سطوح پروتئینی VEGF-A ($p<۰/۰۰۱$) و کاهش بیان ژن VEGF-r ($p<۰/۰۰۱$) در بافت تومور گروه تمرین، گروه کورکومین و بخصوص گروه تمرین-کورکومین نسبت به گروه کنترل را نشان داد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ۵ هفته تمرین استقامتی همراه با مکمل یاری کورکومین احتمالا با تاثیر مهاری فزآینده بر مکانیزم رگزایی از جمله محور VEGF-A/VEGF-r می‌تواند باعث کاهش روند رشد سرطان در موش‌های مبتلا به سرطان نسبت به گروه‌های مداخله‌ای دیگر و گروه کنترل شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، کورکومین، سرطان پستان، VEGF-A، VEGF-r، رگزایی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

شایع‌ترین نوع سرطان در میان زنان در سراسر دنیا سرطان پستان است. این نوع سرطان اصلی‌ترین عامل مرگ زنان مبتلا به آن در جهان نیز به شمار می‌رود (۱). یکی از مسایلی که محققین امروزه به دنبال پاسخگویی به آن هستند این است که چگونه می‌توانند مسیرهای کلیدی رگزایی درون بافت سرطانی از جمله محور VEGF-A/VEGF-r را مهار کنند تا از این طریق رشد و توسعه توده سرطان پستان را مهار کنند (۲، ۳). در این بین، مسیر VEGF-R/VEGF-r به عنوان یکی از مهم‌ترین محورهایی که با ایجاد شبکه عروقی در بافت سرطان نقش حیاتی بازی می‌کنند، در درمان سرطان از اهمیت بالایی برخوردار است (۴-۶). این محور به هنگام فعال‌سازی موجبات رشد، توسعه و متاستاز توده سرطانی را فراهم می‌آورد (۵). در این راستا، VEGF-r به عنوان عوامل اصلی واسطه‌گر عملکرد VEGF-A به شمار می‌روند. VEGF توسط محرک‌های مختلفی از جمله فاکتورهای مختلف رشد، سایتوکاین‌ها، هورمون‌ها، اختلال عملکردی p53، فعال‌سازی آنکوژن‌های RAS و SRC، HER2 در سرطان پستان بیش بیان می‌شود (۴). نشان داده شده است که مهار VEGF با بهبود اثربخشی شیمی‌درمانی و کاهش سمیت این روش درمانی، به عنوان یک شیوه موثر مورد استفاده قرار گرفته می‌شود، اما استفاده از این روش نیز در طولانی مدت عواقب خطرناکی به دنبال دارد (۴).

از مسایل دیگری که امروزه پژوهشگران بروی آن تمرکز کرده‌اند بررسی اثر برآیندی مداخله‌های متفاوت بروی رشد، توسعه و احیانا مهار توده سرطانی است. تعیین نقش زیربنایی و ساختاری تمرین ورزشی در ترکیب با مداخله‌های درمانی دیگر از جمله کورکومین به خاطر نقش ضدسرطانی آن بر سازوکارهای درگیر در رگزایی اینتراتوموری از این گونه مسایل به شمار می‌رود که در مطالعات بالینی و پیش بالینی نه تنها از اهمیت بالایی برخوردار است، بلکه شناخت و دانش علمی در این مبحث با توجه به فقدان مطالعات بسیار ضعیف است. در مقابل، مطالعات نسبتا خوبی در حیطه آنکولوژی تمرین ورزشی به تاثیر مکانیسمی تمرین ورزشی بر روند رشد و توسعه توده سرطان پستان پرداخته‌اند (۷-۹). چنانچه نشان داده شده است که تمرین استقامتی از طریق کاهش بیان سطوح پروتئینی VEGF-A منجر به مهار رگزایی در بافت سرطان پستان و متعاقبا کاهش رشد سرطان در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان می‌شود (۱۰).

از سوی دیگر، کورکومین با مهار مسیرهای کلیدی در رشد و توسعه سلول‌های سرطان پستان از جمله مسیر رگزایی، به عنوان یک عامل ضدسرطانی قوی به شمار می‌رود (۱۱). به نحوی که نشان داده شده که کورکومین با کاهش بیان ژن VEGF و متعاقبا کاهش رگزایی و کاهش رشد توده سرطانی در بافت سرطان پستان MDA-MB-231 در روش in vivo می‌شود (۱۲).

اینکه تمرین ورزشی در ترکیب با کورکومین بر مسیرهای کلیدی و محوری اینتراتوموری سرطان پستان از جمله مسیر رگزایی VEGF-A/VEGF-r اثر برآیندی می‌گذارد، هنوز هم یک مطالعه انجام نگرفته است. این خود گویای یک چالش بزرگ در مطالعات آنکولوژی و آنکولوژی تمرین ورزشی به شمار می‌رود. ازاین‌رو پژوهشگران مطالعه حاضر، به دنبال پاسخگویی به این سوال بودند که آیا ترکیب تمرین تمرین ورزشی استقامتی و کورکومین تاثیر برآیندی بر مهار رشد سرطان پستان و محور کلیدی رگزایی VEGF-A/VEGF-r در این نوع سرطان در موش‌های ماده مبتلا به این نوع سرطان دارد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر تعیین اثر برآیندی تمرین استقامتی به همراه مکمل یاری کورکومین بر محور رگزایی مذکور بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بود. بدین منظور، ۴۰ سر موش ماده بالب سی در دامنه سنی ۴ الی ۵ هفته و با دامنه وزنی ۱۴ الی ۱۶ گرم از موسسه تحقیقاتی پاستور تهران تهیه شد. تمامی حیوانات در شرایط استاندارد حیوان‌های آزمایشگاهی از جمله دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد و سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ نگهداری شدند. همه موش‌ها به شکل آزادانه به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب دسترسی داشتند. علاوه بر این، کلیه اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران با دریافت کد اخلاق (IR.SSRI.REC.1398.620) از

www.SID.ir

Archive of SID

پژوهشگاه علوم ورزشی در طول دوره پژوهش توسط پژوهشگران رعایت گردید.

نحوه ایجاد سرطان پستان در موش‌ها: ابتدا تمامی موش‌های مورد مطالعه با استفاده از تزریق زایلازین و کتامین بیهوش شدند. سپس توده سرطان پستان از نوع 4T1 در ابعاد ۳ در ۴ میلی‌متر به صورت زیر پوستی و در قسمت پهلوی راست موش‌ها پیوند داده شد. پس از پیوند توده سرطانی محل جراحی با دستگاه بخیه فوری، بخیه شد. در انتها توده سرطانی پیوند شده با چسب بخیه فیکس شد.

اندازه‌گیری ابعاد و سنجش حجم توده سرطان پستان در طول مطالعه: سه روز پس از پیوند توده سرطانی و پس از اطمینان از وضعیت طبیعی موش‌ها و بهبود وضعیت زخم در محل پیوند، حجم توده سرطانی با استفاده از کولیس دیجیتال (ساخت کشور آمریکا) در دو بعد طول [L] (بزرگ‌ترین بعد تومور) و عرض [W] (بعد دیگر ۹۰ درجه زاویه نسبت به طول) هفته‌ایی ۲ بار اندازه‌گیری شد. سپس برای سنجش حجم توده از فرمول $[V=1/2(L^2 \times W)]$ استفاده گردید (۱۳).

گروه‌بندی موش‌ها: بعد از پیوند توده سرطانی، موش‌ها به شکل تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی شامل گروه تمرین استقامتی (E)، گروه کورکومین (CC)، گروه تمرین-کورکومین (EC) و گروه کنترل (C) تقسیم شدند. موش‌های گروه E به مدت ۵ هفته پروتکل تمرین ورزشی استقامتی به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ۶۰-۶۵ درصد (velocity at maximal oxygen uptake) vVo_2max، ۵ روز در هفته، روی تردمیل مخصوص جوندگان دویدند. ۵ دقیقه گرم کردن (شدت ۴۰-۳۵ درصد vVo_2max) قبل از شروع پروتکل و ۵ دقیقه سردن کردن (شدت ۴۰-۳۵ درصد vVo_2max) پس از پایان پروتکل در نظر گرفته شد. موش‌های گروه CC نیز در این مدت مورد گاواژ کورکومین (ساخت سیگما آمریکا) قرار گرفتند. موش‌های گروه EC نیز در این مدت تحت هر دو مداخله تمرین استقامتی و گاواژ کورکومین قرار گرفتند. در نهایت، موش‌های گروه C، در طول مطالعه تحت هیچ‌گونه برنامه فعالیت تمرین ورزشی و همچنین گاواژ کورکومین قرار نگرفتند. برای ایجاد شرایط کاملا یکسان و سازگاری با محیط موش‌های گروه C و CC در هر جلسه به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه بر روی نوارگردان خاموش و بی‌حرکت قرار گرفتند. در طول مطالعه نیز، این گروه‌ها در معرض صدای تردمیل قرار داده شدند.

علاوه بر این، در طول مطالعه موش‌های گروه C و گروه E، تحت گاواژ آب قرار گرفتند. این کار جهت یکسان‌سازی تمام گروه‌ها به استرس گاواژ انجام گرفت. جهت تعیین سرعت و شدت پروتکل از روشی که دلفان و همکارانش در سال ۲۰۱۷ در مطالع خود به کار برده بودند (۷)، به صورت دو هفته یک بار استفاده گردید.

وسترن بلات: میزان سنتز پروتئین VEGF-A توسط روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. پس از تعیین مقادیر مساوی از پروتئین عامل مذکور توسط تکنیک الکتروفورز، این پروتئین‌ها به کاغذ PVDF منتقل شدند، سپس کاغذ در محلولی به نام حلول بلاکینگ به مدت زمان یک ساعت قرار گرفتند. پس از این مرحله، کاغذ مذکور به مدت زمان یک شب در محیطی به همراه آنتی بادی اولیه (ساخت شرکت Abcam آمریکا) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در روز دوم، نه تنها با محلول TBST به تعداد ۳ مرتبه شستشو داده شدند، بلکه با استفاده از آنتی‌بادی ثانویه این کاغذ به مدت یک ساعت انکوبه شد. بعد از اینکه بلات‌ها در بافر استریپینگ مورد شستشو قرار گرفتند،

آنتی‌بادی VEGF-A به روی کاغذ اضافه شد. در مرحله بعد کاغذ با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شد. در نهایت جهت دانسیومتری باندها از برنامه ImageJ استفاده شد. در این تکنیک از پروتئین خانه‌داری GAPDH برای کنترل داخلی استفاده شد.

qReal-Time PCR: به منظور اندازه‌گیری بیان ژن VEGF-r در بافت سرطان پستان از روش qReal Time PCR استفاده گردید. برنامه Real Time PCR با دستگاه "Rotrogene 6000, Corbet" ساخت کشور آلمان انجام شد. بدین منظور، ابتدا استخراج RNA از حدود ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم بافت تومور به وسیله ۷۰۰ لاندا ترایزول استخراج شد. قبل از سنتز cDNA برای اطمینان از عدم وجود DNA در نمونه استخراج شده، DNAs treatment (Thermo scientific، آلمان) انجام شد. سنتز cDNA با کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis kit (Roche، آلمان) و طبق دستورالعمل کیت صورت گرفت. سپس

www.SID.ir

Archive of SID

cDNA سنتز شده با ۴۰ میکرولیتر RNase & DNase -free water رقیق شد.

برای سنجش بیان ژن VEGF-r، هر بار ۱/۵ میکرولیتر از هریک از رقت‌ها به همراه ۷/۵ میکرولیتر Master Mix تولیدی ampliqon (دانمارک) و ۱ میکرولیتر از پرایمرها Forward و ۱ میکرولیتر از پرایمر backward (پیشگام، ایران) در ۴ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز (Nuclease –free Water) برای رسیدن به حجم نهایی ۱۵میکرولیتر به خوبی حل و مخلوط شد. تمام واکنش‌ها به صورت دوتایی (دابلیکیت) انجام شد. در نهایت میکروتیوپ‌ها در محل مخصوص خود در دستگاه قرار داده شد و واکنش‌های تکثیر در طی ۴۰ سیکل بر اساس دستورالعمل سازنده کیت به صورت زیر انجام شد: ۹۵^{o}C به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰^{o}C به مدت ۶۰ ثانیه. لازم به ذکر است که دما و زمان دناتوراسیون اولیه به ترتیب ۹۵^{o}C و ۱۵ دقیقه بود.

در نهایت منحنی استاندارد و تکثیر پرایمرها توسط نرم افزار موجود در سیستم آنالیز و رسم شد. برای اطمینان از اختصاصی بودن محصول واکنش منحنی دمای ذوب (Melting Curve) نیز رسم شد. برای کنترل داخلی از ژن خانه‌داری GAPDH استفاده شد و جهت کنترل کیفی محصول واکنش GAPDH مربوط به نمونه بر روی ژل ۲٪ انتقال داده شد و از نظر وجود و یا عدم وجود محصول بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری یافته‌ها: جهت آمار توصیفی داده‌ها از میانگین و انحراف معیار (±) استفاده شد. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (K-S) استفاده گردید، با توجه به معنادار نبودن این آزمون (p>۰/۰۵)، جهت ارزیابی تعیین اثر تمرین و مکمل کورکومین از روش One Way ANOVA استفاده شد. آزمون تعقیبی Tukey (در سطح معنی‌داری ۰/۰۵) نیز جهت تعیین جایگاه معناداری مورد استفاده قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2007 و برای تجزیه تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد.

یافته‌ها

وزن موش‌های تمام گروه‌های مورد پژوهش در جدول شماره ۱ ارایه شده است. همچنین مقادیر میانگین حجم سرطان پستان که در گروه‌های پژوهش به تفکیک هفته نیز در جدول شماره ۲ ارایه شده است، مهار معنادار رشد توده سرطانی در گروه E، CC و EC نسبت به گروه کنترل را نشان داده می‌دهد. این کاهش در گروه EC نسبت به بقیه گروه‌های مداخله‌ای بیشتر بود (p=۰/۰۰۰). نتایج آزمون تحلیل واریانس، وجود اختلاف معنی‌دار در بیان پروتئین VEGF-A و VEGF-r بین گروه‌ها را نشان داد (p= ۰/۰۰۰).

جدول ۱: میانگین وزن اولیه و نهایی موش‌ها (گرم)

گروه‌ها	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)
کنترل	۱۴/۰±۸۲/۶۳	۱۶/۲±۹۲/۶۸
استقامتی	۱۴/۱±۹۰/۲۸	۱۹/۲±۹۶/۹۰
کنترل کورکومین	۱۴/۰±۵۴/۷۸	۱۷/۲±۹۶/۴۴
استقامتی کورکومین	۱۳/۱±۷۴/۳۹	۲۰/۲±۱۰/۲۷

اعداد به شکل میانگین± خطای معیار بیان شده‌اند

همان‌طور که در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است میزان بیان پروتئین VEGF-A در گروه کنترل برابر ۱/۴۳۶۶، گروه استقامتی برابر ۰/۸۹۹۱، در گروه کنترل-کورکومین برابر ۱/۲۱۰۶ و در گروه استقامتی-کورکومین برابر ۰/۶۰۸۲ است، نتایج بررسی بین گروهی حاصل از آزمون TUKEY نشان داد تمامی گروه‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری در بیان پروتئین VEGF-A داشته‌اند (p= ۰/۰۰۰)، همچنین در گروه تمرین استقامتی-کورکومین کاهش معنادار در بیان پروتئین VEGF-A نسبت به گروه کنترل کورکومین و گروه تمرین استقامتی مشاهده شد (p= ۰/۰۰۰).

از سوی دیگر، همان‌طور که در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است میزان بیان ژن VEGF-r در گروه کنترل برابر ۱، گروه استقامتی برابر ۰/۳۰۲۱، در گروه کنترل-کورکومین برابر ۰/۶۲۳۷ و در گروه استقامتی-کورکومین برابر ۰/۳۰۳۹ است، نتایج بررسی بین گروهی حاصل از آزمون TUKEY نشان داد تمامی گروه‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری در بیان ژن VEGF-r داشته‌اند (p= ۰/۰۰۰)، همچنین در گروه تمرین استقامتی-کورکومین کاهش معناداری در بیان ژن VEGF-r نسبت به گروه کنترل کورکومین مشاهده می‌شود (p=۰/۰۰۰)، اما بین دو گروه تمرینی تفاوت معناداری در میزان بیان VEGF-rمشاهده نشد (p=۱/۰۰۰) (نمودار شماره ۲).

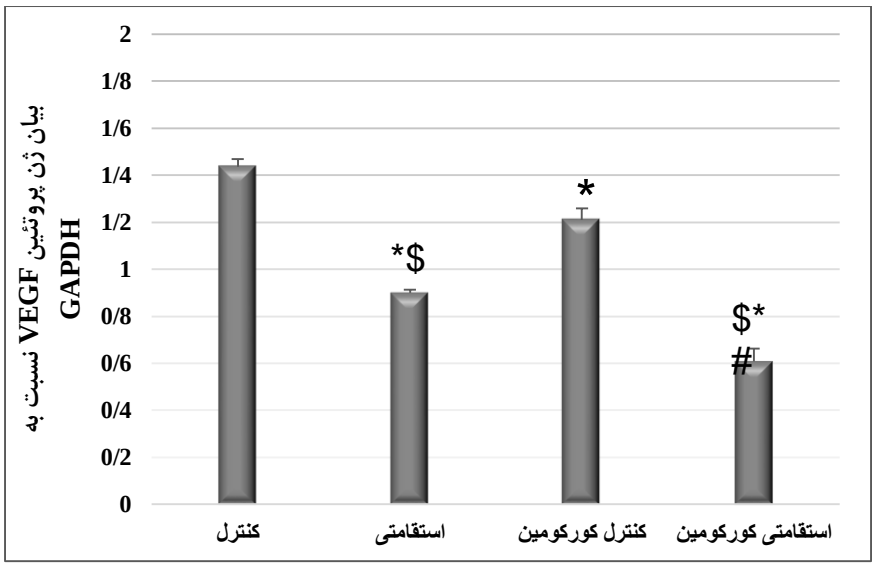
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: میانگین حجم تومور در گروه‌های مختلف (واحد حجم تومور میلی متر مکعب)

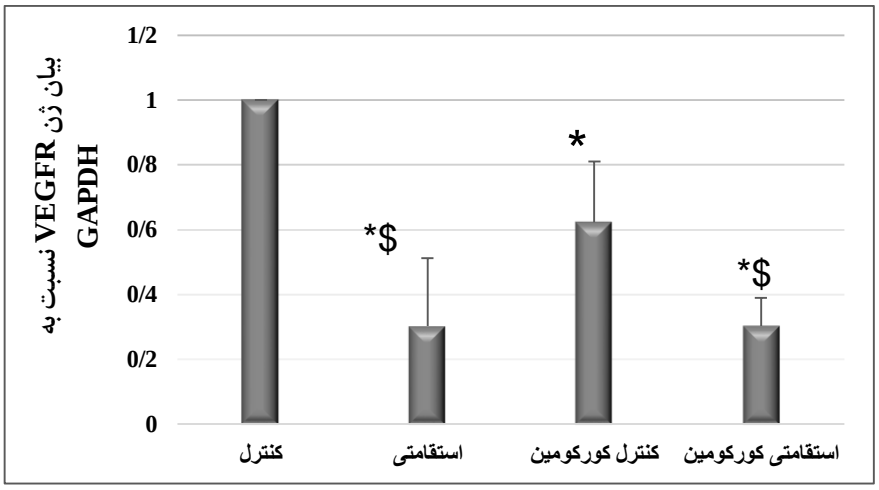
هفته/گروه	کنترل	استقامتی	کنترل کورکومین	استقامتی کورکومین
اول	۴۱±۴۷/۱۶	۷۶±۵۵/۱۵	۷۳±۵۴/۱۵	۱۴±۵۷/۱۳
دوم	۷۴±۵۹۶/۴۲۲	۳۶±۲۴۱/۸۸	۵۳±۲۲۳/۸۱	۱۷±۲۹۸/۱۹۲
سوم	۸۲±۱۹۲۹/۱۸۵	۲۶±۹۴۹/۴۲۱	۳۰±۵۴۵/۳۳۸	۵۴±۷۳۵/۲۸۲
چهارم	۵۴±۳۶۱۱/۳۰۰	۸۴±۱۷۷۸/۴۹۵	۹۶±۱۱۶۹/۶۵۰	۶۹±۱۱۶۸/۲۹۹
پنجم	۸۶±۶۸۵۲/۱۴۲	۱۷±۱۷۳۲/۴۹۰	۵۷±۱۶۸۹/۸۸۷	۳۳±۱۳۷۴/۲۸۷

اعداد به شکل میانگین± خطای معیار بیان شده‌اند



نمودار ۱: تغییرات بیان پروتئین VEGF-A در گروه‌های پژوهش

*معناداری نسبت به گروه کنترل، $ معناداری نسبت به گروه کنترل کورکومین، # معناداری نسبت به گروه تمرین استقامتی



نمودار ۲: تغییرات بیان ژن VEGF-r در گروه‌های پژوهش (برابر تغییر نسبت به گروه کنترل)

*معناداری نسبت به گروه کنترل، $ معناداری نسبت به گروه کنترل کورکومین

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

پژوهش حاضر به منظور بررسی تاثیر برآیندی تمرین استقامتی به همراه مکمل یاری کورکومین بر رشد و توسعه توده سرطان پستان با تاثیر بر محور VEGF-A/VEGF-r در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان انجام گرفت. نتایج یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرین استقامتی، کورکومین و ترکیبی از هر دو مداخله باعث کاهش رشد، توسعه توده سرطان پستان با کاهش معنادار سطوح پروتئینی VEGF-A و کاهش چشمگیر بیان ژن VEGF-r می‌شود. مهم‌ترین نتایج پژوهش حاضر، کاهش معنادار در سرعت افزایش اندازه توده سرطان پستان و سطوح پروتئینی VEGF-A در گروه تمرین-کورکومین نسبت به گروه کورکومین و گروه تمرین استقامتی بود. همچنین این نتایج در مورد کاهش بیان ژن VEGF-r در گروه تمرین-کورکومین نسبت به گروه کورکومین مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر در رابطه با کاهش رشد توده سرطان در گروه تمرین استقامتی نه تنها با نتایج بسیاری از مطالعات گذشته همسو بود (۷، ۸، ۱۴ و ۱۵)، بلکه تاثیر سودمند تمرین استقامتی بر کاهش روند توسعه و رشد سرطان که در مطالعات گذشته اثبات شده است را تایید می‌کند. از طرفی نتایج مطالعه حاضر در رابطه با کاهش رشد و توسعه توده سرطان در گروه مکمل یاری کورکومین با نتایج بسیاری از مطالعات گذشته همسو است (۱۶-۱۹). بر این اساس، از مهم‌ترین نتایج پژوهش حاضر تاثیر فزاینده تمرین به همراه مکمل یاری کورکومین بود که نسبت به گروه‌های دیگر مداخله‌ای تاثیر معنادارتری بر روند کاهشی در رشد توده سرطانی داشت. این نتایج گویای تاثیرات مهم برآیندی این دو مداخله با هم بروی رشد و توسعه توده سرطان پستان در مطالعات آنکولوژی و آنکولوژی تمرین ورزشی است. هرچند در این راستا تا کنون مطالعه‌ایی انجام نگرفته است، اما مطالعات دیگر نشان داده اند که کورکومین به همراه تمرین ورزشی می‌تواند تاثیر برآیندی بر همودینامیک شریان مرکزی در زنان یائسه (۲۰) و یا کاهش التهاب و بهبود عملکرد ناشی از آسیب عضلانی تمرین ورزشی برونگرای دویدن در سراشیبی و سربالایی در موش‌های آزمایشگاهی شود (۲۱). همچنین در یک مطالعه دیگر نشان داده شد که ۸ هفته تمرین استقامتی در ترکیب با کورکومین باعث کاهش معنادار پروتئین شوک گرمایی HSP72 و مالون دی آلدئید در بافت کبدی موش‌های این گروه نسبت به گروه کنترل و هر یک از دومداخله به تنهایی می‌شود (۲۲). این نتایج گویای تاثیرات کارآمدتر و سودمندتر هر دو مداخله مذکور نسبت به هر مداخله به تنهایی است. از سوی دیگر، پژوهش حاضر نشان داد که تمرین استقامتی، مکمل کورکومین و ترکیبی از هر دو مداخله باعث کاهش معنادار سطوح پروتئینی VEGF-A و بیان ژن VEGF-r در توده سرطان پستان در مقایسه با گروه کنترل می‌شوند. همانند تاثیر برآیندی تمرین-کورکومین بر رشد توده سرطانی، تاثیر برآیندی این دو مداخله با هم به طور معناداری بروی محور VEGF-A/VEGF-r نسبت به تاثیر تمرین استقامتی و مکمل یاری کورکومین به تنهایی بیشتر بود. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات گذشته چه در رابطه با تاثیر تمرین ورزشی (۲۳، ۲۴) و چه در رابطه با تاثیر کورکومین (۱۲، ۲۵) همسو بود. اینکه تاثیر برآیندی هر دو مداخله با هم بروی محور مذکور هنوز هم مطالعه‌ایی صورت نگرفته است، تفسیر نتایج را تا حدودی دشوار می‌سازد، اما احتمالا این دو مداخله در ترکیب با هم اثر تحریکی بیشتر را در ریز محیط سرطان پستان فراهم می‌آورد که به مهار هر چه بیشتر محور آنژیوژنزی VEGF-A/VEGF-r منجر می‌گردد. از آنجایی که، آنژیوژنز عامل اصلی و کلیدی در رشد توده سرطانی، تهاجم و متاستاز آن به شمار می‌رود، و افزایش سطوح VEGF-A و VEGF-r باعث افزایش سطوح رگزایی در بافت سرطان می‌شود و متعاقبا منجر به افزایش رشد و توسعه سلول‌های سرطانی می‌شود (۵)، بر این اساس VEGF و گیرنده‌های آن به عنوان رایج‌ترین مولکول‌های هدف برای داروها و مداخله‌های ضد رگ‌زایی در رشد توده سرطانی در نظر گرفته می‌شوند (۲۶) و مهار آنژیوژنز می‌تواند یک روش درمانی بسیار مهم در بیماری سرطان باشد. نصیری و همکارانش در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین استقامتی منجر به مهار رگ‌زایی از طریق مهار بیان سطوح پروتئینی VEGF-A و ژن هدف آن به نام HGS در بافت سرطان پستان در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان می‌شود. از طرفی پژوهشگران نشان داده‌اند که کورکومین با کاهش بیان ژن VEGF منجر به کاهش رگ‌زایی و کاهش رشد توده سرطانی در بافت سرطان پستان MDA-MB-231 در روش in vivo می‌شود (۱۲). بنابراین به نظر می‌رسد

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر توامان تمرین ورزشی و مکمل کورکومین با تشدید مهار فعال‌سازی VEGF-A، آبشار مسیرهای سیگنالینگ VEGF-A و VEGF-r را که منجر به تحریک افزایش شبکه عروق خونی در توده سرطان پستان می‌شود مهار می‌کند. به نظر می‌رسد این دو مداخله در ترکیب با هم به عنوان یک روش کارآمدتر و مفیدتر در به حداقل رساندن رشد و توسعه سرطان نسبت به هر کدام از مداخله‌ها به تنهایی به شمار می‌رود. چرا که در اکثر مطالعات حوزه فیزیولوژی تمرین ورزشی و خارج از مبحث آنکولوژی نیز نشان داده شده که تمرین تمرین ورزشی در ترکیب با مداخله‌های دیگر تاثیر سودمندتری نسبت به مداخله‌ها به تنهایی دارد (۲۷، ۲۸). با تمام این تفاسیر، تاثیر برآیندی تمرینات ورزشی در ترکیب با کورکومین بر دیگر مسیرهای موثر بر رشد و توسعه سرطان پستان از جمله مسیرهای کلیدی دیگر در آنژیوژنز مشخص نشده است. از این رو نتیجه‌گیری قطعی در این مورد که تمرین ورزشی استقامتی به همراه مکمل یاری کورکومین بر کلیه مسیرهای موثر درگیر در آنژیوژنز و رشد سرطان تاثیر می‌گذارد، را دشوار کرده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، احتمالا تمرین استقامتی و کورکومین از طریق تاثیر بر سازوکارهای آنژیوژنزی درون توده سرطان پستان از جمله محورVEGF-A/VEGF-r می‌تواند روند تشکیل شبکه‌های بزرگ مویرگی درون سلول‌های سرطان پستان را مهار کند که به نوبه خود منجر به مهار رشد و توسعه سرطان پستان در موش‌های ماده مبتلا به سرطان می‌شود. از این رو تمرین استقامتی و کورکومین احتمالا با تاثیر بر مولکول‌های پیام‌دهی مهم در دیواره آندوتلیال عروقی سلول‌های سرطان پستان شامل VEGF-A و VEGF-r فعالیت رگزایی اینتراتوموری را کنترل می‌کنند. هر چند که اثر برآیندی و فزاینده این دو مداخله در کنار هم از مهم‌ترین نتایج پژوهش حاضر بود که می‌تواند به عنوان یک روش درمانی یا کمک درمانی با ضریب خطر کمتر نسبت به دیگر روش‌های کمک درمانی از جمله پرتودرمانی و یا شیمی‌درمانی در مهار این مسیر و مسیرهای پایین دست آن پیشنهاد گردد. از طرفی، به نظر می‌رسد انجام پژوهش‌های بیشتر برای روشن شدن اثر هم افزایی تمرین استقامتی و کورکومین با هم بر رشد و توسعه توده سرطان پستان موضوع ضروری است. از نقاط ضعف مطالعه حاضر عدم تعیین چگالی مویرگی توده سرطانی بود. با این وجود تعیین اثر برآیندی کورکومین و تمرین استقامتی در ترکیب با هم از نقاط قوت این مطالعه به شمار می‌روند.

تشکر و قدردانی

از تمامی افرادی که در بخش های مختلف در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند از صمیم قلب تشکر و قدرانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تعارض منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2018; 68(6):394-424.
2. Zhang Q, Lu S, Li T, Yu L, Zhang Y, Zeng H, et al. ACE2 inhibits breast cancer angiogenesis via suppressing the VEGFa/VEGFR2/ERK pathway. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2019; 38(1):1-12.
3. Shokri A, Pirouzpanah S, Foroutan-Ghaznavi M, Montazeri V, Fakhrjou A, Nozad-Charoudeh H, et al. Dietary protein sources and tumoral overexpression of RhoA, VEGF-A and VEGFR2 genes among breast cancer patients. Genes & nutrition. 2019;14(1):22.
4. Banerjee S, Dowsett M, Ashworth A, Martin L-A. Mechanisms of disease: angiogenesis and the management of breast cancer. Nature Clinical practice Oncology. 2007; 4(9):536-50.

www.SID.ir

Archive of SID

5. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. cell. 2011; 144(5): 646-74.
6. Himbert C, Delphan M, Scherer D, Bowers LW, Hursting S, Ulrich CM. Signals from the adipose microenvironment and the obesity-cancer link-a systematic review. Cancer Prevention Research. 2017; 10(9):494-506.
7. Delphan M, Agha Alinejad H, Delfan M, Dehghan S. Intratumoral Effects of Continuous Endurance Training and High Intensity Interval Training on Genes Expression of miR-21 and bcl-2 in Breast Cancer Bearing Female mice. Iranian Quarterly Journal of Breast Disease. 2017; 10(2):49-57.
8. Betof AS, Lascola CD, Weitzel D, Landon C, Scarbrough PM, Devi GR, et al. Modulation of murine breast tumor vascularity, hypoxia and chemotherapeutic response by exercise. JNCI: Journal of the National Cancer Institute. 2015; 107(5).
9. Buss LA, Dachs GU. The Role of Exercise and Hyperlipidaemia in Breast Cancer Progression. Exercise immunology review. 2018; 24.
10. Nasiri M, Peeri M, Matinhomaei H. Endurance Training Attenuates Angiogenesis Following Breast Cancer by Regulation of MiR-126 and MiR-296 in Breast Cancer Bearing Mice. International Journal of Cancer Management. 2017; 10(6).
11. Song X, Zhang M, Dai E, Luo Y. Molecular targets of curcumin in breast cancer. Molecular medicine reports. 2019;19(1):23-9.
12. Chakraborty G, Jain S, Kale S, Raja R, Kumar S, Mishra R, et al. Curcumin suppresses breast tumor angiogenesis by abrogating osteopontin-induced VEGF expression. Molecular medicine reports. 2008;1(5):641-6.
13. Jensen MM, Jorgensen JT, Binderup T, Kjaer A. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microCT is more accurate and reproducible than determined by 18F-FDG-microPET or external caliper. BMC medical imaging. 2008; 8(1):1-9.
14. Mirakhori Z, Kordi MR, Alizadeh S, Anoosheh L, Amani Shalamzari S, et al. The Effect of Aerobic Training on Plasma Estradiol and mir-206 and ERα Expression in mice with Breast Cancer. Iranian Quarterly Journal of Breast Diseases. 2015;7(4):23-32.
15. Hagar A, Wang Z, Koyama S, Serrano JA, Melo L, Vargas S, et al. Endurance training slows breast tumor growth in mice by suppressing Treg cells recruitment to tumors. BMC cancer. 2019; 19(1):1-10.
16. Majumdar AP. Preclinical animal tumor models to study prevention of colon cancer recurrence by curcumin. Animal Models in Cancer Drug Discovery: Elsevier. 2019; 2:93-307.
17. You Z, Li B, Xu J, Chen L, Ye H. Curcumin suppress the growth of hepatocellular carcinoma via down-regulating SREBF1. Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics. 2020.
18. Rutz J, Maxeiner S, Juengel E, Bernd A, Kippenberger S, Zöller N, et al. Growth and Proliferation of Renal Cell Carcinoma Cells Is Blocked by Low Curcumin Concentrations Combined with Visible Light Irradiation. International journal of molecular sciences. 2019; 20(6):1464.
19. Coker-Gurkan A, Bulut D, Genc R, Arisan E-D, Obakan-Yerlikaya P, Palavan-Unsal N. Curcumin prevented human autocrine growth hormone (GH) signaling mediated NF-κB activation and miR-183-96-182 cluster stimulated epithelial mesenchymal transition in T47D breast cancer cells. Molecular biology reports. 2019;46(1):355-69.
20. Sugawara J, Akazawa N, Miyaki A, Choi Y, Tanabe Y, Imai T, et al. Effect of endurance exercise training and curcumin intake on central arterial hemodynamics in postmenopausal women: pilot study. American journal of hypertension. 2012;25(6):651-6.
21. Davis JM, Murphy EA, Carmichael MD, Zielinski MR, Groschwitz CM, Brown AS, et al. Curcumin effects on inflammation and performance recovery following eccentric exercise-induced muscle damage. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2007.
22. Memar Moghadam M. Effects of lead acetate, endurance training and curcumin supplementation on heat shock protein levels in liver tissue. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2011;13(1):74-81.
23. Ahmadian M, Azizbeigi K, Delfan M, Atashak S. Effects of 10 week continuous endurance training on angiopoietin-1 gene expression and the tie2 protein in mice with breast cancer. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services. 2019; 41(1): 7-13.
24. Ahmadian M, Azizbeigi K, Delphan M, Atashak S. The Effect of High Intensity Interval Training on STAT-3 and Angiopoietin-1 Gene Expression, and tie-2 Protein in Mice with Breast Cancer. Iranian Quarterly Journal of Breast Disease. 2018;11(1):37-46.
25. Fu Z, Chen X, Guan S, Yan Y, Lin H, Hua Z-C. Curcumin inhibits angiogenesis and improves defective hematopoiesis induced by tumor-derived VEGF in tumor model through

www.SID.ir

Archive of SID

modulating VEGF-VEGFR2 signaling pathway. Oncotarget. 2015; 6(23):19469.

26. Abdolmaleki Z, Arab H-A, Amanpour S, Muhammadnejad S. Anti-angiogenic effects of ethanolic extract of Artemisia sieberi compared to its active substance, artemisinin. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2016; 26(3):326-33.
27. Delphan M, Rashidlamir A, Delphan F. Resting plasma AgRP levels response to exercise-conjugated diet and only diet in overweight and obese sedentary females. Biology of Sport. 2012; 29(1).
28. Delphan M, Rashidlamir A, Delfan F, Izadpanah N, Rahbarizade F. The effects of two weight loss protocol onresting plasma concentration of IL-6 inoverweight and obese health sedentary female of college students. 22nd International Congress on Pediatrics. 2010.

www.SID.ir