مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۹، شماره۷، مهر ۱۳۹۳(شماره پی در پی ۹۰)

بیان انتقال دهنده‌های لاکتات در تومور موش‌های بالب سی مبتلا به سرطان سینه متعاقب تمرین استقامتی

ملیحه آوسه، روح الله نیکویی*، محسن امینایی

گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۷

چکیده:

زمینه و هدف: تغییر در متابولیسم سلول‌های سرطانی نقش عمده‌ای در زنده ماندن و گسترش آن‌ها دارد. هدف این مطالعه بیان انتقال دهنده‌های لاکتات در تومور موش‌های بالب سی مبتلا به سرطان سینه متعاقب تمرین استقامتی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی تعداد ۲۵ سر موش ماده نژاد بالب سی به طور تصادفی به ۲ گروه کنترل سرطان سینه و تمرینی سرطان سینه تقسیم شدند. سرطان از طریق تزریق سلول سرطانی MC4L2 در پد چربی پستان موش ایجاد شد و پروتکل تمرین استقامتی به مدت ۷ هفته بر گروه تجربی اعمال گردید. حجم تومور با کالیپر میکرودیجیتال و بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۱، مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ٤ و CD147 در تومور به وسیله تکنیک وسترن بلات اندازه گیری شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری تی دانشجویی و پیرسون تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بعد از ۷ هفته تمرین استقامتی کاهش معنی‌داری در وزن، میزان بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۱ و CD147 تومور در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل یافت شد. بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ٤ وحجم تومور بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت($p>۰/۰۵$). بین بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۱ وCD147 تومور ارتباط معنی داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$) در حالی که این رابطه بین بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ٤ وCD147 در تومور معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی با کاهش بیان انتقال دهنده ی لاکتات می‌تواند متابولیسم لاکتات در سلول‌های سرطانی را کاهش دهد و به عنوان یک ابزار مفید در درمان یا جلوگیری از سرطان سینه عمل نماید.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، سرطان سینه، لاکتات، مونوکربوکسیلات ترانسپورترها

***نویسنده مسئول:** **روح الله نیکویی**، کرمان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی
Email:r_nikooie@uk.ac.ir

Archive of SID
SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

سرطان سینه[1] بیماری رایج و یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در زنان است. عوامل درگیر در این بیماری شامل؛ ژنتیک، سابقه فامیلی، سطح هورمونی استروژن و پروژسترون، سن شروع قاعدگی، یائسگی بعد از ۵۰ سالگی، اضافه وزن و چاقی و مصرف الکل می‌باشند، در کنار این عوامل اثرات منفی زندگی بی تحرک و فعالیت بدنی کم (۱) و تأثیرات مفید انجام فعالیت بدنی بر پیشگیری و بهبود سرطان سینه نیز گزارش گردیده است(٤ـ۲).

تغییر در متابولیسم سلول‌های تومور مهم‌ترین مشخصه این سلول‌ها می‌باشد که به عنوان فاکتوری مهم و تأثیرگذار در پیشرفت سرطان اخیراً مورد توجه زیادی قرار گرفته(۷ـ۵) و نشان داده شده است که با جلوگیری یا کاهش متابولیسم در سلول‌های سرطانی می‌توان از زنده ماندن و پیشرفت سرطان جلوگیری کرد(۵). تغییر در متابولیسم لاکتات که محصول جانبی گلیکولیز بی‌هوازی است و عمدتاً در شرایط فقدان اکسیژن در بدن تولید می‌شود یکی از راه حل‌های سازشی سلول‌های توموری جهت زنده ماندن و گسترش بیشتر است(۵). با توجه به این که گسترش اولیه تومور در محیطی کم عروق شکل می‌گیرد، دو نوع سلول مختلف در تومور دیده می‌شود؛ سلول‌های مجاور عروق که نیازهای انرژی خود را از اکسیداسیون تأمین می‌کنند و سلول‌های دور از عروق که سوخت بی‌هوازی گلوکز را برای تأمین انرژی خود انتخاب می‌کنند(٦). سوخت بی هوازی گلوکز در سلول‌های دور از عروق منجر به تولید لاکتات می‌شود که با خروج آن از این سلول‌ها و ورود به فضای بین سلولی در اختیار سلول‌های مجاور عروق قرار می‌گیرد و تأمین انرژی این سلول‌ها را تضمین می‌کند(۷).

فرآیند انتقال و تبادل لاکتات بین سلول‌های مختلف تومور به وسیله مونوکربوکسیلات ترانسپورترها (MCTs)[2] صورت می‌گیرد. تاکنون ١٤ ایزوفرم از این انتقال دهنده‌ها در موش و ۹ ایزوفرم در انسان شناسایی شده است(۵) که توزیعی وابسته به بافت دارند(۵). مونوکربوکسیلات ترانسپورتر۱ (MCT1) ومونوکربوکسیلات ترانسپورتر٤ (MCT4) دو ایزوفرم مهم از این انتقال دهنده‌ها در سلول‌های سرطانی می‌باشند که هر کدام نقش‌های جداگانه‌ای را در تومور ایفا می‌کنند(۹ و۸). کم بودن بستر عروقی[3] در سلول‌های توموری دور از عروق سبب اتکای این سلول‌ها به مسیر گلیکولیز بی‌هوازی در تأمین انرژی می‌شود که متعاقب این عمل غلظت درون سلولی لاکتات در این سلول‌ها افزایش می‌یابد(۱۰). این امرسبب افزایش بیان MCT4 در سلول‌های سرطانی می‌شود تا امکان خارج کردن لاکتات تولیدی از سلول امکان‌پذیر باشد(۵). از آنجایی که خروج لاکتات از سلول سرطانی فاکتوری مهم در حفظ فنوتیپ اسیدی و حیات این سلول‌هاست، مطالعاتی که از خاموش

1- Breast Cancer
2- Monocarboxylate Transporters (MCTs)
3-Vascularization

Archive of SID

www.SID.ir

کردن ژن MCT4 بهره گرفته‌اند کاهش در رشد تومور را گزارش نموده اند(۱۲ و۱۱).

عوامل متعددی نحوه تنظیم و بیان MCTs را تحت تأثیر قرار می‌دهند. نشان داده شده است که تمرین(۱۵-۱۳) و هایپوکسی(۱۶) باعث افزایش بیان MCTs می‌شوند در حالی که فرایند معکوس با انجام تعلیق عضو[1] (۱۷) و عصب‌زدایی[2](۱۸) گزارش گردیده است. با وجود این که نقش MCT1 و MCT4 در گسترش و بقای سلول‌های سرطانی مشخص است، لیکن تاکنون مطالعه‌ای اثر تمرین بر بیان MCT1 و MCT4 در تومور را مورد بررسی قرار نداده است.

بیان مناسب MCTs نیاز به یک پروتئین کمکی[3] به نام CD147 دارد(۵) که گلیکو پروتئینی چند منظوره از خانواده ایمونوگلوبولین(Ig) است(۱۹). این ژن که همراه با MCTs کدگذاری می‌شود در سلول‌های سرطان سینه بسیار بیان می‌شود و باعث بیان متالوپروتئیناز ماتریکس خارج سلولی شده و به همراه MCT4 نقش مهمی را در زنده ماندن سلول‌های سرطانی بازی می‌کند(۲۰). در واقع در تحقیقی ثابت شد که سلول‌های سرطانی MDA-MB-236 انسان معمولاً آهسته رشد می‌کنند، در حالی که با تزریق CD147 به آنها یک فنوتیپ پیشرونده را اتخاذ می‌کنند که نشان دهنده شتاب رشد و افزایش تهاجم سلولی است(۲۱). با در نظر گرفتن این امر که در سرطان سینه میزان بیان CD147 در تومور بالا می‌رود و به دلیل نقش مهم این پروتئین در تنظیم بیان MCTs، هدف از مطالعه حاضر تعیین تأثیر تمرین استقامتی بر بیان MCT1، MCT4 و CD147 در تومور موش‌های بالب سی مبتلا به سرطان سینه بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی بر روی ۵۰ رأس موش ماده نژاد بالب سی در سن ۳ هفتگی با میانگین وزنی ۱/۳ ± ۱۷/۵ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط هوایی آزمایشگاه تحت سیکل ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی- روشنایی نگهداری شدند، انجام گردید. موش‌ها با غذای مخصوص موش و آب تغذیه شدند. بعد از یک هفته نگهداری و آشناسازی با محیط آزمایشگاه موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه تمرینی(۱۳ سر) و کنترل(۱۲ سر) تقسیم شده و بر اساس وزن هم‌سان‌سازی شدند. مجوز اخلاق جهت انجام تحقیق حاضر از کمیته اخلاقی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان اخذ گردید. کلیه مراحل انجام تحقیق درمرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان و به مدت ۱۲ ماه به انجام رسید.

سرطان در تحقیق حاضر از طریق تزریق زیر پوستی سلول سرطانی MC4-L2 در پد چربی پهلوی راست سینه رت به وجود آمد. رده سلولی مورد نظر از انستیو پاستور ایران خریداری شده و سلول‌ها در محیط DMEM با گلوکز بالا، ۱۰ درصد(FCS) سرم جنین گوساله[4] و استرپتومایسین ــ پنی‌سیلین ۱ درصد

1-Hind limb Suspension
2-Denervation
3-Chaperonprotein
4-Fetal Calf Serum

www.SID.ir
Archive of SID

کشت و تحت شرایط CO_2 ۵ درصد، O_2 ۹۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند(۲۲). سلول‌های MC4L2 کشت داده شده پس از تریپسینه شدن و شستشو با بافرPBS با لام نئوبار شمارش شدند وجهت القاء سرطان سینه، تعداد $۱/۲\times۱۰^{۶}$ سلول در حجم ۱۰۰ میکرولیتر بافرPBS تهیه و به صورت زیرپوستی به ناحیه پد سینه راست موش تزریق شد(۲۳). ۱۰ روز بعد از تزریق، تومور با چشم قابل رؤیت شد. با توجه به این که در ٤ سر از موش‌ها تومور ایجاد نگردید و تعداد ۳ سر موش در طول دوران تحقیق از بین رفتند، اندازه‌گیری نهایی متغیرهای تمرین بر روی ۹ موش از هر گروه انجام گرفت. ده روز پس از تزریق سلول، تومور با چشم قابل مشاهده و ١٤ روز پس از آن قابل اندازه‌گیری بود. ١٤ روز پس از تزریق حجم تومور اندازه‌گیری و به عنوان حجم اولیه در نظر گرفته شد. بعد از آن اندازه‌گیری حجم تومور هر هفته دو بار با کالیپر(MitutoyoABSOLUTE500-197-20DigitalCaliper, USA) اندازه‌گیری شد. اندازه ی تومور با توجه به فرمول زیر محاسبه گردید که فرمولی استانداردی برای اندازه گیری تومور می‌باشد (٢٤).

حجم تومور =π/٦ × طول^{۲} × عرض

در اندازه گیری حجم تومور بیشترین طول قابل اندازه‌گیری به عنوان طول تومور و اندازه‌گیری حاصله در زاویه ۹۰ درجه طول به عنوان عرض تومور در نظر گرفته شد.

تمرین استقامتی به مدت ۷ هفته، پنج روز در هفته بر گروه تمرینی اعمال شد(جدول ۱). تمرینات در هفته اول با دویدن روی تردمیل موش سرعت ۱۵ متر بر ثانیه به مدت ۲۰ دقیقه شروع و درنهایت در هفته هفتم به ۵۵ دقیقه دویدن با سرعت ۲۰ متر بر ثانیه رسید. در دو هفته آخر نیز تمامی متغیرهای تمرینی ثابت نگه داشته شدند تا سازگاری‌های انجام شده در زمان تشریح به حالت یکنواخت خود برسند.

جهت تهیه هموژن از بافت تومور، حدود ۲۰۰ ـ ۱۵۰میلی‌گرم از بافت تومور با روش هاون کوبی پودر و به نسبت ۱ به ۵ دربافر لیز کننده RIPA (۵۰ میلی مولار تریس هیدروکلرید(Tris- HCl)، ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلرید (NaCl)، ۱ درصد NP40 (Nonidet P-40)، ۱ درصد سدیم دئوکسی کولات (Na deoxycholate)، ۱۰ درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS)، ۰/۰۱ مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید (PMSF)، ۱ میلی مولارEDTA، pH = ۷/۲) لیز و به طور کامل هموژن شد. محلول حاصله سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه نگهداری و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در rpm ١٤٠٠٠ ، ٤^{o} درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته ودر دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش بردفورد[۱] و با استفاده از آلبومین سرم گاوی[۲](BSA) به عنوان استاندارد انجام گرفت.

1- Bradford
2-Bovin Serum Albumin

Archive of SID

www.SID.ir

وسترن بلات بدین صورت بود که میزان ۲۰میکروگرم پروتئین در هر چاهک ریخته شد و جداسازی پروتئین با استفاده از تکنیک SDS-PAGE[۱] با ژل ۱۲/۵ درصد انجام شد. پروتئین‌های جدا شده به غشای PVDF[۲] با منافذ ۰/٤٥ میکرون انتقال داده شدند. سپس مرحله بلاکینگ[۳] غشاء با محلول محتوی ۵۰ میلی مولار تریس هیدروکلرید، ۰/۱ درصد توویین ۲۰(Tween20)، ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید، ۵ درصد اسکیم میلک (Skim milk) pH=۷/٤، به مدت ۱/۵ ساعت خوابانده شد. سپس غشاء در طول شب در محلول محتوی آنتی‌بادی اولیه با غلظت (۱میکروگرم بر میلی‌لیتر) که در بافر محتوی ۱ درصد BSA و ۲ درصد اسکیم میلک رقیق شده بود، قرار گرفت. پس از انجام شستشوی غشاء جهت رفع آنتی‌بادی‌های غیر متصل، غشاء در معرض آنتی بادی ثانویه Horse Radish Peroxidase (HRP) قرار گرفته و مجدداً شسته شد. بیان پروتئین با استفاده از روش Enhanced Chemi Luminescence(ECL) اندازه‌گیری شد. غشاء در معرض فیلم رادیوگرافی قرار گرفت و ظهور باندها بر روی فیلم در تاریک‌خانه به انجام رسید. از تکنیک چگالی سنجی[٤] چگالی باندها MCT1 و MCT4 تعیین شد و جهت نیمه کمی کردن بیان MCT1 و MCT4 از میزان بیان MCT1 در غشای اریتروسیت استفاده گردید. در این روش میزان باند MCT1 حاصل از ۵ میکروگرم پروتئین Mouse Erytrocyte Ghoste به عنوان مبنا در نظر گرفته شد و بقیه باندها در مقایسه با آن به مقادیر کمی‌تبدیل شدند(۱۳).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری تی دانشجویی، کلوموگروف ـ اسمیرنف و پیرسون تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصله بعد از ۷ هفته تمرین استقامتی وزن نسبی تومور و وزن نسبی قلب بین دو گروه اختلاف معنی‌دار داشت($p<۰/۰۵$). مقادیر نسبی حجم تومور بین دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت($p>۰/۰۵$)(جدول ۱).

بعد از ۷ هفته تمرین استقامتی، بیان MCT1 در تومور به طور معنی‌دار در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود($p<۰/۰۱$)(نمودار۱). علی‌رغم کاهش بیان MCT4 تومور در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد($p>۰/۰۵$). بیان CD147 در تومور به طور معنی‌داری در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود($p<۰/۰۵$) (نمودار ۱). بین بیان MCT1 و CD147 در تومور ارتباط معنی‌دار یافت شد($p<۰/۰۵$)(نمودار ۲ الف). ارتباط بین بیان MCT4 و CD147 در تومور معنی‌دار نبود($p>۰/۰۵$)(نمودار الف۲).

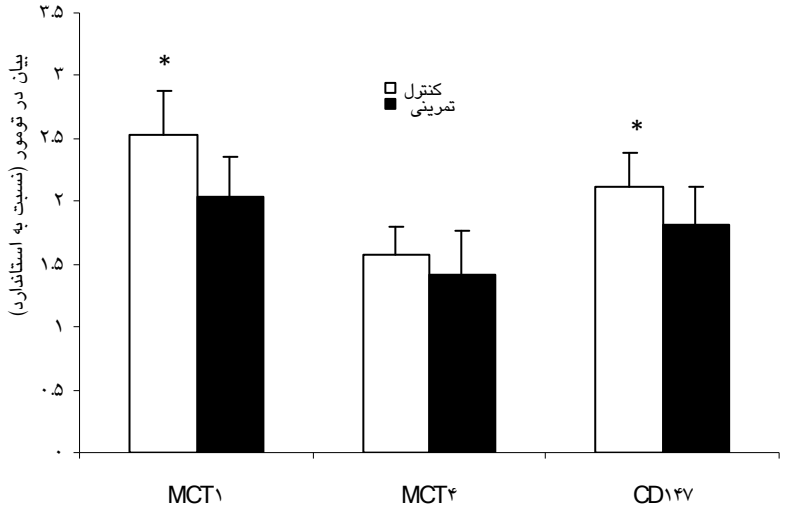
1-Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels electrophoresis
2-Polyvinylidenedifluoride membrane
3-Blocking
4-Densitometricscanning

Archive of SID

www.SID.ir

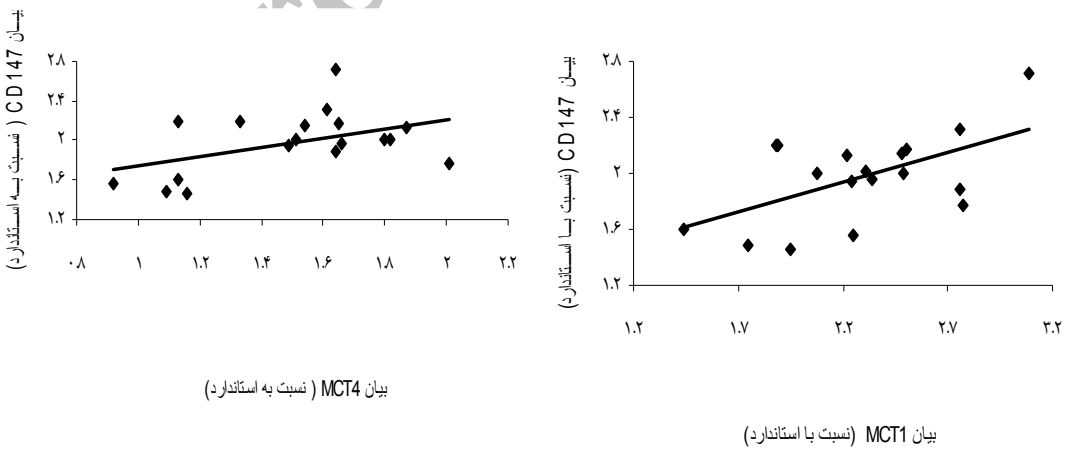
جدول۲: مقایسه میانگین و انحراف‌معیار وزن بدن، وزن قلب، وزن تومور در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	کنترل	تمرینی	سطح معنی‌داری
وزن نسبی قلب (میلی گرم بر گرم)	۵/۷۲ ± ۰/۸۳	٦/٥٤ ±۰/۳۹	<۰/۰۵
وزن نسبی تومور (میلی گرم برگرم)	۳۱/۵۷±٤/۸٤	۲۹/٦۰±۲/٦٥	<۰/۰۵
حجم تومور(سانتی متر مکعب بر گرم)	۷۰/٤۰±۱۰/۹۷	٦۷/۳۹±۱۰/٤٥	>۰/۰۵



نمودار ۱: مقایسه بیان MCT1, MCT4, CD147 تومور در گروه های کنترل(n=۹) و تمرینی (n=۹)

***اختلاف معنی دار با گروه کنترل (p<۰/۰۵)**



نمودار ۲-الف : ارتباط بین بیان MCT1 و CD147 در تومور نمودار ۲-ب: ارتباط بین بیان MCT4 و CD147 در تومور

www.SID.ir

بحث

تغییر در متابولیسم سلول‌های سرطانی که با اتکای زیاد آن‌ها به متابولیسم لاکتات(محصول جانبی گلیکولیز بی هوازی) صورت می‌گیرد، یکی از راه‌حل‌های سازشی سلول‌های توموری جهت زنده ماندن و گسترش بیشتر آن‌ها است(۵). فرآیند انتقال و تبادل لاکتات بین سلول‌های مختلف تومور به وسیله مونوکربوکسیلات ترانسپورترها (MCTs) صورت می‌گیرد(۵). عوامل متعددی نحوه تنظیم و بیان MCTs را تحت تأثیر قرار می‌دهند. مهار فعالیت MCTs در تومور به عنوان ابزاری درمانی در سرطان سینه در حال معرفی شدن است. با وجود این که تأثیرات مثبت تمرینی بر بیان MCTs در شرایط غیر سرطانی مشخص است(۱۵-۱۳)، لیکن تاکنون مطالعه‌ای تأثیر تمرین استقامتی بر بیانMCTs تومور را مورد بررسی قرار نداده است، لذا هدف از این مطالعه بررسی یک دوره تمرین استقامتی ۷ هفته‌ای به منظور تعیین تغییرات در بیانMCT1، MCT4، CD147، وزن و حجم تومور در انتهای دوره تحقیق بود. مهم‌ترین یافته این تحقیق این بود که MCT1 مهم‌ترین ایزوفرم از مونوکربوکسیلات ترانسپورترها است که وظیفه انجام تبادل لاکتات در تومور موش‌های بالب سی را انجام می‌دهد. دیگر یافته تحقیق حاضر این بود که تمرین استقامتی می‌تواند با کاهش بیانMCT1 وCD147 باعث کاهش وزن تومور در مقایسه با گروه کنترل شود. نکته منحصر به فرد تحقیق حاضر این بود که این اولین مطالعه ای است که تأثیر تمرین استقامتی بر بیان MCT1، MCT4 و CD147 را در شرایط سرطان سینه مورد بررسی قرار داده است.

در انتهای پروتکل تمرینی گروه تمرینی کاهش معنی‌دار در وزن نسبی تومور را نسبت به گروه کنترل نشان دادند. این نتیجه حاکی از مؤثر بودن پروتکل تمرینی در درمان سرطان سینه در تحقیق حاضر است. تعیین اثر بخش بودن پروتکل اعمال شده در تحقیق حاضر با استفاده از مقادیر نسبی وزن قلب و مقایسه آن بین دو گروه انجام گردید. افزایش معنی‌دار وزن نسبی قلب در گروه تمرینی حاکی از اثر بخش بودن پروتکل تمرینی اعمال شده است. پروتکل تمرینی تحقیق حاضر به گونه‌ای طراحی گردید که دارای شدتی متوسط باشد، چرا که پدرو و همکاران نشان داده‌اند که اعمال تمرین با شدت متوسط باعث کاهش وزن و حجم تومور در موش‌های مبتلا به سرطان سینه می‌شود(۲۷). سودمندی تمرین با ویژگی‌های فوق بر کاهش حجم و وزن تومور در مطالعات پیشین نیز گزارش شده است(۲۸ و۲۷). در تحقیق حاضر کاهش معنی‌دار در وزن نسبی تومور ماحصل کاهش معنی‌دار در بیان MCT1 و CD147 می‌باشد که در زیر به تفصیل بحث شده‌اند. علی‌رغم کاهش معنی‌دار وزن نسبی تومور، تفاوت حجم نسبی تومور در انتهای تحقیق بین دو گروه معنی‌دار نبود که احتمالاً کوتاه بودن پروتکل تمرینی می‌تواند دلیل احتمالی این موضوع باشد، چرا که نشان داده شده است که تأثیر تمرین بر حجم تومور در هفته‌های ۱۲ به بعد ایجاد می‌شود(۲۹ و۲۸).

Archive of SID

www.SID.ir

در تحقیق حاضر تأثیر تمرین بر بیان MCT1 و MCT4 بـه عنـوان دو ایزوفـرم مهـم در نقـل و انتقـال لاکتات در سلول‌های تومور مورد بررسی قرار گرفت. به دنبال اعمال پروتکل تمرینی کاهش معنی‌دار در بیان MCT1 در تومور موش‌هـای تمرینـی نـسبت بـه گـروه کنترل اتفاق افتاد. MCTs نقش مهمـی در نقـل و انتقـال لاکتـات در شـاتل درون و بـین سـلولی لاکتـات در بافت‌های مختلف ایفا می‌کنند(۵). ایـن انتقـال دهنـده‌هـا عمدتاً در غشای پلاسمایی وجود دارند، در حـالی کـه وجود ذخایر سیتوپلاسـمی نیـز بـرای MCT1 گـزارش شده است. در سـرطان سـینه نیـز، MCT1 و MCT4 بـه همـراه CD147 نقـش بـسیار مهمـی را در تومـور ایفـا می‌کند و افزایش در بیان MCT1 و MCT4 در سلول‌های سرطانی در تحقیقات پیشین گزارش شده است(۹ و۸).

MCTs بـا کمـک بـه نقـل و انتقـال لاکتـات بـین سـلول‌هـای تومـور بـه شـکل‌گیـری و حفـظ فنوتیـپ تهاجمی سلول‌های سرطانی کمک مـی‌کننـد. بـه همـین دلیل مهار فعالیت MCTs در تومور بـه عنـوان ابـزاری درمانی در سرطان سینه در حال معرفی شـدن اسـت. به عنوان مثال در تحقیقی که به وسـیله سـانویاکس و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام گرفـت، خـاموش کـردن ژن MCT1 در سـلول‌هـای انـدوتلیال منجـر بـه کـاهش HIF1–α [1]گردیـد و از آنژیـوژنز و گـسترش تومـور جلوگیری به عمل آمد(۳۰). به این دلیل کاهش معنی‌دار در بیـان MCT1 در گـروه تمرینـی مطالعـه حاضـر می‌تواند به عنوان یک مکانیسم سلولی در تـأثیر مفیـد تمرین در کاهش وزن تومور مشاهده شـده در گـروه تمرینی تحقیق حاضـر ارایـه شـود. احتمـالاً ایـن اثـر MCT1 در کـاهش وزن تومـور بـه وسـیله کـاهش آنژیوژنز تومور انجام مـی‌شـود، چـرا کـه در تحقیـق سانویاکس نـشان داده شـد کـه خـاموش کـردن MCT1 منجر به کاهش آنژیوژنز تومور منجر می‌شود. عملی که با کاهش در بیـان VEGFR2 [2] گیرنـده عامـل رشـد عروقی VEGF[3] است کـه اثـرات آنژیوژنیـک VEGF از طریق آن واسطه‌گری می‌شود، انجام می‌گردد(۳۰). با کاهش آنژیوژنز تومور سـلول‌هـای هـم‌جـوار عـروق مجبور بـه اسـتفاده بیـشتر گلـوکز گردیـده و مقـادیر کمتری از این سوبسترا در اختیار سـلول‌هـای دور از عروق قرار می‌گیرد که نهایتاً می‌تواند تأمین انـرژی و حیات این سلول‌ها را به خطر بیندازد. با در نظر گرفتن این مطلب که تاکنون گزارشی در مورد تأثیر تمرین بر بیان MCTs در تومور گزارش نشده اسـت، در شـروع انجام این تحقیق احتمال کاهش بیان MCT4 تحت تـأثیر تمرین مد نظر بود، لیکن در پایان تحقیق این امر محقق نگردید و کاهش معنی‌داری در بیان این انتقـال دهنـده در تومـور گـروه تمرینـی نـسبت بـه کنتـرل مـشاهده نگردید. این احتمال وجود داد که نقش MCTs و توزیـع زیر سلولی آنها در تومور دچار تعدیلات اندکی شـود، چرا که نشان داده شده است کـه MCT4 در تومـور در سطح سیتوپلاسم هم قابـل انـدازه‌گیـری اسـت(۸)، در حالی که این انتقال دهنده در بافت‌هـای طبیعـی صـرفاً در غشای پلاسمایی یافت می‌شود(۳۱). به دلیل این که

1- Hypoxia-Inducible Factor-α
2-Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2
3-Vascular Endothelial Growth Factor

Archive of SID

www.SID.ir

در مطالعه حاضر بیان MCT4 به صورت کلی در تومور اندازه‌گیری گردید، این عامل می‌تواند به عنوان دلیل احتمالی عدم تغییر معنی‌دار در بیان MCT4 تومور در انتهای تحقیق حاضر معرفی شود، لذا انجام تحقیق دیگر با هدف اندازه‌گیری بیان MCT4 تومور به صورت جداگانه در غشای پلاسمایی و سیتوپلاسم به محققان بعدی پیشنهاد می‌شود. در عین حال به عنوان نتیجه‌گیری نهایی، نتایج تحقیق حاضر حاکی از نقش برجسته تر MCT1 نسبت به MCT4 در نقل و انتقال لاکتات در سلول‌های سرطانی بود.

کاهش در بیان MCT1 در تومور با کاهش در بیان CD147 همراه بود. CD147 یک گلیکوپروتئین چند عملکردی است که می‌تواند بیان MCTs را تنظیم کند(۳۲). مطالعاتی که از خاموش کردن CD147 استفاده نموده‌اند، کاهش بارز در بیان MCT1 و MCT4 را گزارش نموده‌اند و تأیید کرده‌اند که CD147 یک پروتئین کمکی است که وجود آن برای بیان طبیعی MCTs مورد نیاز است(۳۲). بعضی از مطالعات هم بر این اعتقاد هستند که MCT1 و MCT4 انتقال دهنده‌های هترومریک هستند که از یک واحد مونوکربوکسیلات ترانسپورتر و یک زیر واحد CD147 تشکیل شده‌اند. نقشCD147 در گسترش سرطان در تحقیقات پیشین نیز گزارش شده است(۳۲ و۸). در مطالعه حاضر نیز ضرورت وجود CD147 جهت بیان طبیعی MCT1 از ارتباط مثبتی که بین CD147 و MCT1 به دست آمد، قابل استنتاج است. مشابه این رابطه در مطالعه کلین و همکاران نیز گزارش شده است(۹). با توجه به این که CD147 در انتقال این ترانسپورترها به سمت غشای پلاسمائی و بیان شدن آن‌ها بر روی غشا تأثیرگذار است، کاهش معنی‌دار این فاکتور می‌تواند به عنوان یک مکانیسم سلولی، کاهش در بیان MCT1 در مطالعه حاضر را تفسیر نماید.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بعد از اعمال یک دوره تمرین استقامتی میانگین وزن تومور کاهش معنی‌دار دارد. این تغییر با کاهش بیانMCT1 و CD147 در تومور همراه است. در نتیجه تمرین استقامتی با کاهش بیان انتقال دهنده لاکتات می‌تواند متابولیسم لاکتات در سلول‌های سرطانی را کاهش دهد و به عنوان یک ابزار مفید در درمان یا جلوگیری از سرطان سینه عمل نماید.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش دانشگاه شهید باهنر کرمان است، نویسندگان بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از پژوهشکده مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان به جهت حمایت آزمایشگاهی از انجام تحقیق حاضر ابراز می‌دارند.

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES:

1.Rodney CR, John OS. Breast Cancer: A Review of the Literature. J Insur Med 2003; 35:85-101.
2.Kristin LC, Anne M. Exercise and Biomarkers for Cancer Prevention Studies. J Nutr 2007; 137(1): 161S–9S.
3.Henry JT , Anne MR , Karen A. R, Tagliaferro AR. Effect of Type and Amount of Dietary Fat on the Enhancement of Rat Mammary Tumorigenesis by Exercise. Cancer Res 1989; 49: 1904-8.
4.Daniel AG , Robert UN. Exercise Intervention Studies in Cancer Patients . J Cin Oncol 2005; 23(4): 899-90.
5.Nihed D, Olivier F. Lactate shuttles at a glance: from physiological paradigms to anti-cancer treatments. Disease Models & Mechanisms 2011; 4: 727-32.
6.Gregg LS. Tumor metabolism: cancer cells give and take lactate. J Clin Invest 2008; 118(12): 3835–7.
7.Pierre S, Frédérique V, Thies S, Melanie CW, Julien V, Zahid NR, et al. Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice. J Clin Invest 2008;118(12): 3930-42.
8.Céline P, Adhemar LF, João AS, Margarida C, Fernando CS, Fátima B. Role of monocarboxylate transporters in human cancers: state of the art. J Bioenerg Biomembr 2012; 44(1): 127-39.
9.C´eline P, Rui MR, Sara R, Adhemar LF, Fernando S, F´atima B. Expression of Monocarboxylate Transporters 1, 2, and 4 in Human Tumours and Their Association with CD147 and CD44. J of Biomedicine and Biotechnology 2010; 10: 1155, 2010, 427694
10.Parks SK, Chiche J, Pouyssegur J. pH control mechanisms of tumor survival and growth. J Cell Physiol 2011; 226: 299–308.
11.Renaud LF , Johanna C, Ibtissam M, Tanesha N, Karine I, Clare MM, et al. CD147 subunit of lactate/H+ symporters MCT1 and hypoxia-inducible MCT4 is critical for energetic and growth of glycolytic tumors. PNAS 2011; 108 (40): 16663–8.
12.Shannon MG , John JC , Dian W. Monocarboxylate Transporter 4 Regulates Maturation and Trafficking of CD147 to the Plasma Membrane in the Metastatic Breast Cancer Cell Line MDA-MB-231. Cancer Res 2007; 67: 4182-9.
13.Hervé D ,Gail EB , Eugene EW , Bryan CB , and George AB. Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle. AJP Endo 2000; 278(4): E571 – 9.
14.Thomas C, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. Hysiol 2005; 98(3): 804-9.
15.Thomas C, Sirvent P, Perrey S, Raynaud E, Mercier J. Relationships between maximal muscle oxidative capacity and blood lactate removal after supramaximal exercise and fatigue indexes in humans. J Appl Physiol 2004 ; 97: 2132-8.
16.Heredia FP, Wood IS, Trayhurn P. Hypoxia stimulates lactate release and modulates monocarboxylate transporter (MCT1, MCT2, and MCT4) expression in human adipocytes. Pflugers Arch Eur J Physiol 2010; 459: 509–18.
17.Dubouchaud H, Granier P, Mercier J, Le Peuch C, Prefaut C. Lactate uptake by skeletal muscle sarcolemmal vesicles decreases after 4 wk of hindlimb unweighting in rats. J Appl Physiol 1996; 80(2): 416-21.
18.McCullagh KJA, Bonen A. Reduced lactate transport in denervated rat skeletal muscle . Am J PhysiolRegulIntegr Comp Physiol 1995; 268: R884–R8.
19.Hao JL, Cozzi PJ, Khatri A, Power CA, Li Y. CD147/EMMPRIN and CD44 are potential therapeutic targets for metastatic prostate cancer. Curr Cancer Drug Targets 2010; 10(3): 287-306.
20.Rajaa H, George AB. Mitochondrial and plasma membrane lactate transporter and lactate dehydrogenase isoform expression in breast cancer cell lines. Physiol Genomics 2011;43(5):255-64.
21.Li Y , Stanley Z, Bryan P. Roles of the multifunctional glycoprotein, emmprin(basigin; CD147), in tumour progression. Thromb Haemost 2005; 93: 199-204.
22.Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. J Nutr 2002; 132: S3456– 64.
23.Shalini SK, Radhakrishnan AK, Cheong SK. Immune responses in the microenvironment of a metastatic 4T1 mouse model. Egypt Acad J Biolog 2010; 2(2): 19-26.

Archive of SID

www.SID.ir

24.Schroede R, James EH, Mark WD, Stephen TK, Stephen JF, Michael QP, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. J Appl Physiol 2010; 108: 343-8.
25.Lanari C, Lüthy I, Lamb CA, Fabris V, Pagano E, Helguero LA, Sanjuan N, Merani S, Molinolo AA. Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: in vivo and in vitro effects of estrogens and progestins. Cancer Res 2001; 61(1): 293-302.
26.Alma JS, William RP, William TK, Schmitz, Mindy SK. The Effects of Aerobic Exercise on Estrogen Metabolism in Healthy Premenopausal Women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2013; 22; 756.
27.Pedro WMA, Ary GF, Anderson JF, Carlos EMR, Marco FDP, Remo CR, et al. Swim training suppresses tumor growth in mice. J Appl Physiol 2009; 107: 261-5.
28.Murphya EA, Davisb JM, Barrilleauxb TL, McClellanb JL, Steinerb JL, Carmichaelb 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.Steiner JL, Davis JM, McClellan JL, Enos RT, Murphy EA. Effects of voluntary exercise on tumorigenesis in the C3(1)/SV40Tag ransgenic mouse model of breast cancer. International Journal of Oncology 2013; 42(4): 1466-72.
30.Sonveaux P, Copetti T, Saedeleer CJ, Ve´gran F, Verrax J, et al. Targeting the Lactate Transporter MCT1 in Endothelial Cells Inhibits Lactate-Induced HIF-1 Activation and Tumor Angiogenesis. PLoS ONE 2012; 7(3): e33418.
31.Andrew PH, Nigel TP. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. Biochem 1999**;** 343: 281-99.
32.Schneiderhan W, Scheler M, Holzmann KH. CD147 silencing inhibits lactate transport and reduces malignant potential of pancreatic cancer cells in in vivo and in vitro models. Gut 2009; 58: 1391-8.

Archive of SID

www.SID.ir

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Lactate Transporters Expression in Tumor of Balb/c Mice Bearing Breast Cancer after Endurance Training

Aveseh M, Nikooie R*, Aminaie M

Department of Exercise physiology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Received: 7 Jan 2014 Accepted: 27 April 2014

Abstract

Background & aim: Changes in the metabolism of cancer cells plays a major role in the survival and their expansion. The aim of this study was to determine expression of lactate transmitters in Balb/c mice with breast cancer after endurance training.

Methods: In this experimental study twenty-five Balb C mice were randomly divided into two groups of breast cancer control (N=13) and breast cancer training (N=12). Breast cancer was induced in mammary fat pad by injection of cancer cells (MC4L2) in mice and endurance training protocol was applied for 7 weeks in the experimental group. Tumor volume and MCT1, MCT4, and CD147 expression were measured by micro digital caliper and western blotting technique respectively. Data were analyzed statistically using Student t and Pearson.

Results: Significant decreases was found in weight and CD147 expression of tumor after 7 weeks of endurance training in the exercise group compared to the control group. No significant differences were seen in MCT4 expression and tumor volume between the groups (05 / 0p>0.05). Significant correlation was found between tumor MCT1 and CD147 expression ($P < 0.05$), while the relationship between MCT4 and CD147 expression in tumors was not statistically significant.

Conclusion: Endurance training can reduce lactate metabolism in cancer cells through suppression of lactate transporters expression and provides a useful tool in breast cancer treatment or prevention.

Key words: Endurance training, Breast cancer, Lactate, Monocarboxylate transporters

***Corresponding author: Nikooie R,** Department of Exercise physiology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
Email: r_nikooie@uk.ac.ir

Please cite this article as follows:
Aveseh M, Nikooie R, Aminaie M. Lactate Transporters Expression in Tumor of Balb/c Mice Bearing Breast Cancer after Endurance Training. Armaghane-danesh 2014; 19(7): 602-613.

Archive of SID

).ir