

اثر ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی قبل و بعد از القای سرطان پستان بر سطح سرمی آیریسین و رشد تومور در موش Balb/c

سمانه خلیق فرد^۱، حمید رجبی^۲، رضا قراخانلو^۳، سولماز خلیق فرد^۴، وحید ستوده^۱، علی محمد علیزاده^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: آیریسین مایوکاینی است که می‌تواند به عنوان یک نشانگر جدید، ارتباط بین ورزش و کاهش شیوع و پیشرفت سرطان را نشان دهد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی قبل و بعد از القای سرطان پستان بر سطح سرمی آیریسین و رشد تومور در موش Balb/c بود.

روش‌ها: در این تحقیق نیمه‌تجربی، ۴۰ سر موش آزمایشگاهی نژاد Balb/c ماده، به روش تصادفی در ۴ گروه شاهد، تومور، ورزش و ورزش به همراه تومور قرار گرفتند. تمرین اصلی، ۴ هفته قبل و ۴ هفته بعد از ایجاد تومور با شدت‌های ۷۰ و ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (Maximum rate of oxygen consumption) یا VO_{2max} اجرا گردید. موش‌های گروه تومور و گروه ورزش به همراه تومور، از طریق جراحی زیر جلدی با تومور آدنوکارسینومای پستان موشی، مبتلا به سرطان شدند. رشد تومور هر هفته اندازه‌گیری گردید. در پایان مطالعه، تومورها با جراحی برداشته شدند. میزان آیریسین سرم، با روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) اندازه‌گیری شد. برای بررسی بیان ژن VEGF (Vascular endothelial growth factor) از روش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون t و ضریب همبستگی Pearson در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: کاهش معنی‌داری در میزان رشد تومور در گروه ورزش به همراه تومور نسبت به گروه تومور مشاهده گردید. سطح سرمی آیریسین به طور معنی‌داری در گروه ورزش و ورزش به همراه تومور، به ترتیب نسبت به گروه شاهد و گروه توموری افزایش یافت. میزان بیان VEGF در گروه ورزش به همراه تومور نسبت به گروه تومور کاهش معنی‌داری نشان داد ($P = 0.003$). ارتباط معنی‌داری بین سطوح آیریسین با نسبت رشد تومور در گروه ورزش به همراه تومور مشاهده شد ($P < 0.001$). ($r = -0.916$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که نقش مثبت تمرینات منظم هوازی در کاهش رشد سلول‌های سرطانی پستان موش‌های Balb/c از طریق افزایش سطح آیریسین و کاهش بیان VEGF، باشد.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، آیریسین، سرطان پستان، موش Balb/c

ارجاع: خلیق فرد سمانه، رجبی حمید، قراخانلو رضا، خلیق فرد سولماز، ستوده وحید، علیزاده علی محمد. اثر ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی قبل و بعد از القای سرطان پستان بر سطح سرمی آیریسین و رشد تومور در موش Balb/c. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۵۹): ۱۷۷۵-۱۷۸۴

این موضوع برای بررسی و مطالعات بیشتر می‌باشد. بر همین اساس، مطالعات بسیاری درباره‌ی اثرات مثبت ورزش بر رشد و تکامل تومور صورت گرفته است که یک ارتباط مستقیم بین تغییرات سلولی و سیستمیک و ناشی از فعالیت‌های ورزشی و کاهش رشد تومور پستان را نشان داده‌اند (۲).

مقدمه

سرطان پستان یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین سرطان‌ها و بیش از سایر سرطان‌ها باعث مرگ و میر در زنان می‌شود (۱). از آن جایی که تا کنون یک روش درمانی کامل توسعه یافته در سرطان پستان وجود ندارد، این بیماری روز به روز در حال افزایش است و بیانگر اهمیت

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
- ۲- استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
- ۳- استاد، گروه تربیت بدنی، دانشکده‌ی علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۴- دانشجوی دکتری، گروه سلولی- مولکولی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
- ۵- مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Email: aalizadeh@sina.tums.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤو: علی محمد علیزاده

که می‌تواند مانند یک نشانگر جدید برای تعیین سرطان پستان و تشخیص اولیه‌ی آن به کار رود (۷).

Aydin و همکاران، تأیید کردند که تولید آیریسین به طور معنی‌داری در انواع بافت‌های سرطانی افزایش می‌یابد که یک ارتباط بین آیریسین و سرطان را نشان می‌دهد. به هر حال، مکانیزم دقیق برای سطح افزایش یافته‌ی آیریسین در بیشتر بافت‌های تومور ناشناخته باقی مانده و فرض شده است که آیریسین ممکن است اثرات سیتوتوکسیک در برابر سرطان‌های پستان و پروستات را نشان دهد (۶) یا ممکن است در ویژگی‌هایی مانند توسعه و پیشرفت سلول‌های بدخیم سرطان پستان تغییر ایجاد کند و در نهایت، این که آیریسین ممکن است یک اثر ضد التهابی داشته باشد (۸، ۶).

از آن جایی که رگ‌زایی درون تومور و ازدیاد جریان خون درون تومور برای رشد تومور ضروری می‌باشد، پژوهش‌های مختلف نشان داده است که عامل رشد مشتق از اندوتلیوم (Vascular endothelial growth factor یا VEGF) به عنوان عوامل میتوز اصلی در رگ‌زایی سرطان پستان است. رگ‌زایی نقش مهمی در متاستاز و رشد و پیشرفت تومور دارد (۹). VEGF در مهاجرت، تکثیر، تجزیه‌ی ماتریکس سلول‌های اندوتلیال، تشکیل شبکه‌های عروقی و همچنین، تولید نیتریک اکساید و آزادسازی آن در سلول‌های اندوتلیال نقش دارد (۱۱-۱۰). علاوه بر آن، یک اثر آنتی‌آپوپتوتیک بر روی سلول‌های اندوتلیال دارد. همچنین، سبب افزایش نفوذپذیری و گشاد شدن عروق می‌گردد (۱۲). تأثیر تمرین ورزشی بر حجم تومور، پیچیده و نامشخص است. در بسیاری از پژوهش‌ها، کاهش حجم تومور به دنبال فعالیت منظم ورزشی گزارش شده است (۱۳-۱۴).

Verma و همکاران، کاهش حجم تومور ناشی از تمرین هوازی را با کاهش آنژیوژنز، کاهش بیان ژن VEGF، مقادیر اریتروسیت و لاکتات ریز محیط تومور و افزایش اکسیژن و نیتریک اکساید، مرتبط می‌دانند (۱۵).

مطالعات اخیر، نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی با شدت متوسط از طریق تقویت سیستم ایمنی و رهایی مایوکاین‌ها نقش مفیدی در پیش‌گیری و درمان بیماری‌های التهابی نظیر سرطان پستان و یا بیماری‌های ثانویه همراه با سرطان دارد. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی می‌تواند نشانگرهای خطررزی سرطان را در افرادی که در معرض ابتلا به سرطان پستان می‌باشند، تغییر دهد. با این که مطالعات اخیر بر نقش حفاظتی فعالیت ورزشی بر رشد تومور تمرکز کرده‌اند، اما در راستای نقش حفاظتی فعالیت ورزشی بر رشد و تکثیر تومور پستان، با فرض تأثیر مثبت آیریسین مطالعه‌ای انجام نگرفته است. پژوهش حاضر، اولین مطالعه در زمینه‌ی بررسی نقش آیریسین در رشد

همچنین، مطالعات اپیدمیولوژی اثرات پیش‌گیری ورزش در سرطان پستان را نشان داده‌اند که اثرات حفاظتی احتمالی فعالیت بدنی در سرطان پستان با کاهش خطر بروز ۳۰-۲۰ درصدی بیماری در ارتباط می‌باشد (۳).

ساز و کارها و تأثیرات مفید فعالیت ورزشی بر فرایند سرطان پستان بسیار پیچیده است. در راستای چگونگی این ساز و کارها، در دهه‌های اخیر گزارش‌های زیادی نشان داده است که سلول‌های عضله‌ی اسکلتی به واسطه‌ی ترشح هورمون‌هایی به عنوان مایوکاین‌ها نظیر آیریسین، با تبعیت از یک الگوی اتوکراین، پاراکراین و اندوکراین در پاسخ به انقباض عضلانی هنگام فعالیت ورزشی، با دیگر بافت‌ها ارتباط برقرار می‌کنند (۴).

آیریسین، یک مایوکاین ۱۱۲ اسید آمینه‌ای است که توسط Bostrom و همکاران کشف شده است (۵). آیریسین در هر دو پلاسمای انسان و موش وجود دارد که در پاسخ به فعالیت ورزشی تنظیم مثبت می‌شود و بسیاری از اثرات بیولوژیکی خود را اعمال می‌کند (۶).

آیریسین، دارای مجموعه عملکردهای گوناگونی می‌باشد که هنوز به طور کامل مشخص نشده است. آیریسین، ممکن است در تغییر ویژگی‌های سلول‌های سرطانی بدخیم مشابه با دیگر مایوکاین‌ها مانند IL-6 (Interleukin-6) و Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) عمل کند. بر این اساس، فرض گردید که آیریسین، می‌تواند روی توسعه و پیشرفت سرطان پستان مؤثر باشد. با بررسی نقش آیریسین در سرطان، مطالعات جدید گزارش کرده‌اند که آیریسین می‌تواند ارتباط بین ورزش و کاهش شیوع و پیشرفت سرطان را نشان دهد.

همچنین، ممکن است یک نقش پیشنهادی در درمان سرطان از طریق ایجاد یک پاسخ ضد التهابی، مرگ سلول آپوپتوتیک یا افزایش حساسیت تومور به عوامل آنتی‌نوپلازی مانند داروی داکسوروبوسین داشته باشد، حتی می‌تواند به عنوان یک نشانگر جدید برای تعیین سرطان پستان و تشخیص اولیه‌ی آن نیز به کار رود. بنابراین، در رویکرد جدیدی، برخی پژوهشگران ارتباط بین آیریسین و سرطان را بررسی کرده‌اند.

Provatopoulou و همکاران، با بررسی ارتباط بین آیریسین و سرطان پستان از طریق ارزیابی قابلیت سطوح سرمی آیریسین در بین بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد سالم نشان دادند که سطوح سرم آیریسین به طور معنی‌داری در بیماران سرطان پستان در مقایسه با گروه شاهد سالم پایین بود و بیان آیریسین کاهش یافته را با پیدایش سرطان پستان مرتبط دانستند. به این وسیله، آن‌ها عملکرد بالقوه‌ی آیریسین را مانند یک شاخص تشخیصی از وجود بیماری بیان کرده‌اند.

گروه‌های تحقیق حاضر شامل گروه شاهد، گروه تومور، گروه ورزش و گروه ورزش به همراه تومور بودند. گروه شاهد، هیچ گونه فعالیت و تداخلی تا پایان مطالعه انجام ندادند. در گروه تومور، بعد از مبتلا شدن به تومور، تا پایان مطالعه هیچ مداخله‌ای انجام نشد. گروه ورزش مطابق جدول ۱ به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته و با شدت تعیین شده تمرینات هوازی تناوبی را انجام دادند. در گروه ورزش به همراه تومور، موش‌های ۴ هفته قبل و ۴ هفته بعد از ایمپلنت بافت تومور، تمرین هوازی تناوبی را بر طبق شیوه‌نامه‌ی ورزشی (جدول ۱) دریافت نمودند.

اندازه‌گیری وزن حیوان: حیوانات از ابتدای مطالعه هر ۳ روز یکبار توزین شدند و وزن آن‌ها گزارش شد.

شیوه‌نامه‌ی تمرینی: تمرین اصلی، یک تمرین هوازی تناوبی دویدن روی نوار گردان بود که در جدول ۱ ارائه شده است. در پایان هفته ۸، موش‌های تمام گروه‌ها به منظور سنجش عوامل مربوط اتانازی شدند. شیوه‌نامه‌ی تمرینی با شدت‌های تقریبی ۷۰ و ۵۰ درصد VO_{2max} اجرا شد. موش‌های گروه ورزش و گروه ورزش به همراه تومور، بر روی نوار گردان ۶ کاناله به مدت ۸ هفته و هر هفته ۵ جلسه، بین ساعات ۱۲-۸ ظهر تمرین می‌کردند. موش‌های گروه‌های ورزش و ورزش به همراه تومور، برای عادت کردن به تمرینات و دویدن روی نوار گردان، ابتدا تمرینات آشناسازی را با دویدن روی نوار گردان با سرعت ۷-۵ متر در دقیقه، ۱۵-۱۰ دقیقه در روز، ۳ روز متوالی انجام دادند. پس از اجرای تمرینات آشناسازی و تا اجرای تمرینات اصلی، موش‌ها به مدت ۲ روز بین تمرینات آشناسازی و تمرینات اصلی استراحت کردند.

و تکثیر سلول‌های سرطان پستان در پاسخ به فعالیت ورزشی است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی این سؤال که «آیا تمرینات ورزشی منظم قبل و بعد از وقوع سرطان می‌توانند از طریق تولید و ترشح آیریسین عضلانی بر رشد و تکامل تومور مؤثر باشند؟» و این که «آیا تمرینات ورزشی منظم قبل و بعد از وقوع سرطان نقشی در بازداری از رشد تومور با بررسی نشانگر درگیر در رگ‌زایی دارند؟» اجرا گردید.

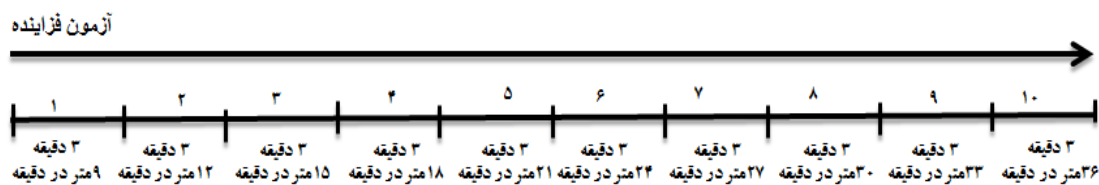
روش‌ها

آزمودنی‌ها: در پژوهش تجربی حاضر، ۴۰ سر موش آزمایشگاهی نژاد Balb/c ماده با محدوده‌ی سنی ۷-۶ هفته و وزن ۱۸-۱۶ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش‌ها در گروه‌های ده‌تایی و در محیطی با میانگین دمای $22/0 \pm 1/4$ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت 4 ± 55 درصد و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات با درب توری و به ابعاد ۲۵، ۲۷ و ۴۳ سانتی‌متر در مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی تهران واقع در بیمارستان امام خمینی (ره) نگهداری شدند. غذای حیوانات شامل آب و غذای معمول موش بود که از شرکت خوراک دام پارس خریداری و به صورت آزاد و در اختیار تا پایان مطالعه در دسترس موش‌ها بود. کلیه‌ی اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت.

گروه‌بندی حیوانات مورد مطالعه: تمامی موش‌ها پس از یک هفته آشنایی با شرایط زندگی در حیوان‌خانه و نحوه‌ی دویدن روی نوار گردان به روش تصادفی به ۴ گروه ده‌تایی تقسیم شدند.

جدول ۱. شیوه‌نامه‌ی تمرین هوازی تناوبی قبل و بعد از القای سرطان بر روی نوار گردان در دو گروه ورزش و ورزش به همراه تومور

دوره‌ی تمرین	سرعت (متر در دقیقه)	تکرار	زمان (دقیقه)	کل زمان (دقیقه)	تکرار (روز در هفته)
مرحله‌ی آشناسازی	۵-۷			۱۰-۱۵	۳
هفته‌ی اول و دوم	سرعت متوسط: ۱۹	۵	۲	۱۰	۵
	سرعت پایین: ۱۴	۵	۲	۱۰	
هفته‌ی سوم	سرعت متوسط: ۲۱	۵	۳	۱۵	۵
	سرعت پایین: ۱۵	۵	۳	۱۵	
هفته‌ی چهارم	سرعت متوسط: ۲۱	۵	۴	۲۰	۵
	سرعت پایین: ۱۵	۵	۴	۲۰	
هفته‌ی پنجم و ششم	سرعت متوسط: ۱۹	۵	۲	۱۰	۵
	سرعت پایین: ۱۴	۵	۲	۱۰	
هفته‌ی هفتم	سرعت متوسط: ۲۳	۵	۳	۱۵	۵
	سرعت پایین: ۱۷	۵	۳	۱۵	
هفته‌ی هشتم	سرعت متوسط: ۲۳	۵	۴	۲۰	۵
	سرعت پایین: ۱۷	۵	۴	۲۰	



شکل ۱. آزمون فزاینده

تومور به صورت زیر جلدی در پهلوئی سمت راست حیوان کاشته شد. یک هفته بعد از ایمپلنت، تومور در تمام موش‌ها قابل رؤیت و اندازه‌گیری بود. برای اندازه‌گیری حجم تومور به صورت هفته‌ای دوبار از کولیس دیجیتال (Mitutoyo, Japan) استفاده شد (۱۸).

طول، عرض و ارتفاع تومور طبق فرمول $V = 1/6 (\pi \times L \times W \times D)$ محاسبه و لحاظ شد که در آن، L طول تومور، W عرض، D ارتفاع و V حجم تومور را نشان می‌دهد. سپس، میانگین اعداد به دست آمده از اندازه‌گیری حجم تومور در پایان هفته‌ی ۸ به میانگین اعداد به دست آمده در هفته‌ی اول تقسیم شد و عدد حاصل به عنوان نسبت حجم تومور در نظر گرفته شد.

سنجش آیریسین سرمی به روش

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): برای انجام آزمایش، بعد از اتانازی حیوانات، نمونه‌ی خون در لوله‌ی لخته‌ی آزمایش ریخته و نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و سانتریفیوژ شدند و سرم مربوط جدا گردید و تا انجام آزمایش در دمای -20 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از جمع‌آوری کامل نمونه‌ها، میزان آیریسین با استفاده از کیت ELISA مربوط (Krystal biotech, Mouse Irisin Elisa kit, cat.no.E1479.Mo) و بر اساس دستورالعمل کیت اندازه‌گیری شد (۱۹).

استخراج RNA و سنتز cDNA

برای استخراج RNA از بافت‌های تومور با توجه به شیوه‌نامه، از کیت (Extraction Kit, Parstuse, Total RNA) استفاده شد. RNAها از بافت جدا شدند و در پایان، مقدار RNA با روش چگالی نوری (Optical density یا OD) و میزان جذب در طول موج تعیین شده توسط دستگاه اسپکتروفومتری اندازه‌گیری گردید. سپس، سنتز cDNA مطابق شیوه‌نامه با استفاده از کیت (Easy cDNA Synthesis Kit, Parstuse) بهینه شده انجام گرفت. در این شیوه‌نامه، به مقدار ۱ میکرولیتر از هر یک از ترکیبات Deoxy nucleotide triphosphate (dNTP) ۱۰ میلی‌مولار، ۴۰ میکروگرم/میکرولیتر Oligo or Random Hexamer، ۱۰ میکروگرم/میکرولیتر Deoxythymine (dT) ۱۰۰ میکروگرم/میکرولیتر، ۱۰ میکروگرم/میکرولیتر RNA Template در میکروتیوب ریخته و سپس، لوله به مدت

پس از ۱ روز استراحت و قبل از شروع تمرین اصلی، با استفاده از آزمون فزاینده‌ی استاندارد Bedford و همکاران که به وسیله‌ی Leandro و همکاران برای Ratها و موش‌ها استانداردسازی شده است، بیشترین اکسیژن مصرفی موش‌های Balb/c محاسبه گردید (۱۷-۱۶). آزمون فزاینده شامل یک آزمون ۱۰ مرحله‌ای دویدن روی نوار گردان بدون شیب بود که پس از ۱۰ دقیقه گرم کردن با سرعت پایین اجرا شد. سرعت شروع، ۵ متر بر دقیقه بود که هر ۳ دقیقه، سرعت ۵ متر بر دقیقه اضافه می‌شد، تا جایی که موش‌ها دیگر قادر به دویدن نبودند. سرعت نهایی موش‌ها به عنوان سرعت پیشینه در زمان رسیدن به بیشترین اکسیژن مصرفی به دست آمد و ۵۰ و ۷۰ درصد آن به عنوان شدت‌های تمرینی کمینه و بیشینه برآورد گردید (شکل ۱).

آزمون فزاینده، به صورت جداگانه از موش‌های گروه‌های ورزش و ورزش به همراه تومور گرفته شد. از حیوانات هر دو هفته یک بار آزمون فزاینده گرفته شد و شدت تمرین با توجه به مقادیر جدید آزمون تعیین می‌شد. پس از ۲۴ ساعت استراحت، تمرین اصلی بر اساس شدت‌های به دست آمده از آزمون فزاینده طراحی گردید (جدول ۱). گروه شاهد در این مدت، هیچ‌گونه فعالیت ورزشی نداشتند. پس از پایان شیوه‌نامه‌ی تمرین هوازی تناوبی، موش‌های تمام گروه‌ها ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه از تمرین، اتانازی شدند. در ابتدا، موش‌ها با ترکیبی از زایلوزین و کتامین بی‌هوش شدند و با جراحی نمونه‌ی خونی و بافت تومور موش‌ها برداشته شد و بلافاصله در ازت مایع فریز و در دمای -80 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. نمونه‌های خونی نیز پس از چند دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم آن‌ها جدا گردید و در دمای -80 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

نحوه‌ی ایجاد و اندازه‌گیری تومور: MC4L2 به عنوان تومور

اولیه و استوک جهت پیوند استفاده شد. ابتدا بافت توموری استوک، از تومور پستان موش ماده‌ی نژاد Balb/c در شرایط استریل جدا و به قطعاتی با ابعاد کمتر از 0.3 میلی‌متر مکعب برش داده شد. سپس، هر یک از موش‌های گروه‌های تومور و ورزش به همراه تومور، به وسیله‌ی کتامین و زایلازین (به ترتیب با دز ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم داخل پرتیون) بی‌هوش شدند و تکه‌های

جدول ۲. پرایمرهای اختصاصی جهت واکنش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR)

Gene	Forward 5'→3'	Reverse 5'→3'
VEGF	TGAACCTTCTGCTCTCTTGGG	GGTTCGCTGGTAGACATCG
GAPDH	AGGCCGGTGCTGAGTATGTCGTG	TCACAAACATGGGGGCATCGG

VRGF: Vascular endothelial growth factor; GAPDH: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

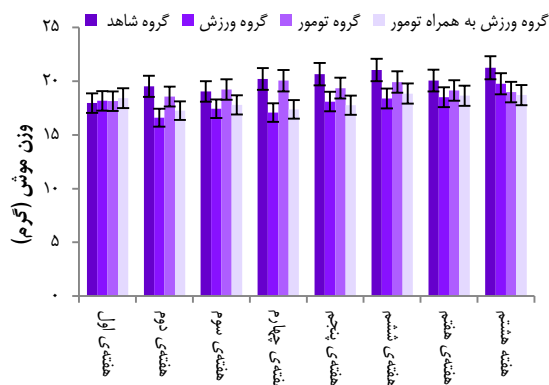
ارزیابی خلوص و کیفیت محصولات Real-time PCR

مقادیر Ct برای هر نمونه محاسبه می‌شود. تغییرات بیان ژن‌ها در هر نمونه با استفاده از مقادیر CT اندازه‌گیری می‌شود. فرمول‌های مورد استفاده در محاسبات شامل (ژن مرجع) - Ct (ژن هدف) $\Delta Ct = Ct$ (نمونه‌ی مورد آزمایش) - ΔCt (نمونه‌ی طبیعی) $\Delta \Delta Ct = \Delta Ct$ و $2^{-\Delta \Delta Ct}$ = میزان تغییرات بیان ژن بودند (۲۱).

روش آماری: برای توصیف داده‌ها از میانگین و انحراف معیار استفاده شد. برای ارزیابی توزیع طبیعی داده‌ها، از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده گردید. برای تحلیل استنباطی داده‌ها، از آزمون‌های t و از همبستگی Pearson برای بررسی ارتباط بین داده‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

روند تغییرات وزن موش‌ها به صورت هفتگی در تمام گروه‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲. اثر ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی قبل و بعد از القای سرطان بر روی تغییرات وزن موش‌ها به صورت هفتگی

روند تغییرات حجم تومور به صورت هفتگی در دو گروه تومور و ورزش به همراه تومور نشان داد که میزان رشد تومور در گروه تومور به طور معنی‌داری بیشتر از گروه ورزش به همراه تومور بود (شکل ۳). با توجه به این موضوع که تومور ۳ سر از موش‌ها در هفته‌ی هشتم به طور کامل از بین رفته بود، همین امر موجب کاهش در میانگین حجم تومور در هفته‌ی هشتم نسبت به هفته‌ی هفتم شده بود.

۶ دقیقه در ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده و سپس بلافاصله در یخ گذاشته شد. ۱۰ میکرولیتر از RT Premix درون میکروتیوب ریخته شد. با مخلوط دو میکروتیوب، حجم نهایی واکنش در نهایت به میزان ۲۰ میکرولیتر به‌دست آمد. تسالی ژن VEGF از سایت NCBI National Center for Biotechnology Information (NCBI) به دست آمد و با استفاده از برنامه‌ی Primer ۳ Express، پرایمرهای اختصاصی طراحی گردید. پس از طراحی تسالی پرایمرها توسط NCBI و Runner Gene نیز گردیدند تا دقت و اختصاصی بودن آن‌ها به طور کامل مورد بررسی قرار گرفت (۲۰).

Real-time polymerase chain reaction

Real-time PCR: جهت بررسی میزان بیان ژن VEGF در نمونه‌های تومور مورد مطالعه، از روش Real-time PCR و با Syber Green PCR Master Mix استفاده شد. در این روش، از زوج پرایمر اختصاصی که توسط گروه تحقیقاتی و با استفاده از سایت NCBI طراحی شده، استفاده گردید. همچنین، جهت بررسی میزان بیان ژن Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) به عنوان شاهد داخلی (Housekeeping gene) از زوج پرایمرهای اختصاصی استفاده گردید. تسالی پرایمرها در جدول ۲ آمده است (۱۱).

واکنش Real-time PCR، ژن‌های پیش‌گفته طبق روش زیر و با استفاده از دستگاه BIO-RAD Thermal cycler انجام گرفت. میانگین Cycle threshold (Ct) ها، با استفاده از $2^{-\Delta \Delta Ct}$ محاسبه شد. جهت انجام واکنش، به هر تیوب ۱۰۰ میکرولیتری، مقدار ۱۰ میکرولیتر Master Mix سایبرگرین با غلظت 2×0.3 میکرولیتر از پرایمرهای Forward و Reverse با غلظت ۱۰ پیکومولار (که با استفاده از نرم‌افزار Primer ۳ طراحی شده‌اند)، $7/4$ میکرولیتر آب Diethyl pyrocarbonate (DEPC) و ۲ میکرولیتر cDNA استفاده شد. تکثیر PCR در ۴۰ چرخه، شامل ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. در همه‌ی موارد، داده‌ها با ژن GAPDH به عنوان Housekeeping gene مقایسه شد. با استفاده از رنگ سایبرگرین (SYBER Green) میزان آمپلی‌فیکاسیون (Amplification) در هر چرخه دنبال شد. میزان افزایش محصولات اندازه‌گیری شد. پس از اتمام واکنش تکثیر، برای هر واکنش PCR یک نمودار رسم و سپس، بر اساس آن Ct تعیین گردید (۲۱).

همچنین، بین سطوح آیریسین با نسبت رشد حجم تومور در گروه ورزش به همراه تومور بعد از ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی، ارتباط معنی داری مشاهده شد ($r = -0/916, P < 0/001$).

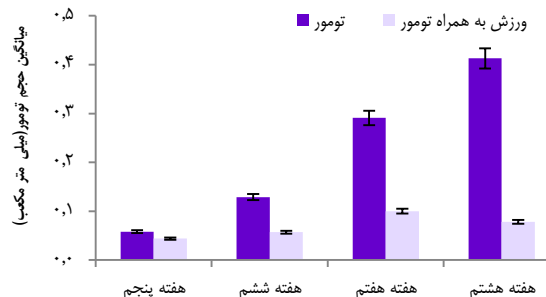
بحث

پژوهش حاضر نشان داد، ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی قبل و بعد از سرطان، می تواند روند پیش روی سرطان پستان را کاهش دهد؛ به گونه ای که نسبت رشد تومور به طور معنی داری در گروه ورزش به همراه تومور نسبت به گروه تومور پایین تر بوده است. در واقع، رگ زایی اساس رشد تومور می باشد و هدف قرار دادن آن، می تواند از رشد تومور بازداری کند. با دانستن کاهش بیان ژن VEGF (نشانگر رگ زایی) در این پژوهش، به نظر می رسد که کاهش رگ زایی درون تومور با کاهش معنی داری در میزان بیان VEGF به دنبال ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی می تواند موجب کاهش حجم تومور در گروه ورزش به همراه تومور گردد. همچنین، به نظر می رسد به هنگام انجام فعالیت بدنی، بین ریز محیط تومور و عضلات فعال در بهره مندی از توزیع خون، اکسیژن و مواد مغذی مجادله ای صورت می گیرد. از آن جایی که جریان خون تومور کاهش می یابد و به دنبال آن کاهش اکسیژنی در قسمت میانی تومور رخ می دهد، احتمال وقوع آپوپتوز در تومور نیز افزایش می یابد (۲۲).

بررسی های مختلف، کاهش حجم تومور به دنبال انجام تمرین های ورزشی منظم را گزارش کرده اند. هم راستا با داده های حاصل از حجم تومور در پژوهش حاضر، Murphy و همکاران نشان دادند که تمرین اجباری نوار گردان، موجب کاهش معنی دار تعداد و حجم تومور در موش های مبتلا به سرطان پستان می شود (۱۳). همچنین، نتایج پژوهش Betof و همکاران در موش های مبتلا به سرطان پستان نشان داد که تمرین هوازی به عنوان یک روش درمانی، می تواند رشد تومور را در گروه هایی که پس از سرطانی شدن تمرین هوازی انجام داده بودند، نسبت به سایر گروه ها تا دو برابر کاهش دهد (۱۴).

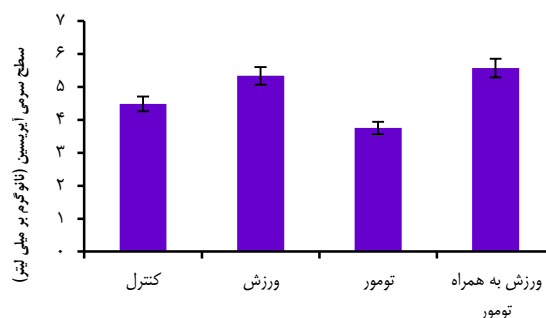
Zielinski و همکاران نیز نشان دادند فعالیت شدید بر رشد تومور با اثرگذاری بر ریز محیط تومور منجر به تأخیر در رشد تومور می شود (۲۳). در مطالعه ای که توسط Zhao و همکاران بر روی بیماران مبتلا به سرطان معده انجام گرفته بود، نتایج آن ها افزایش در میزان بیان VEGF را در بافت تومور نسبت به بافت سالم نشان دادند که بیانگر نقش احتمالی VEGF در پیشرفت تومور از طریق افزایش آنژیوژنز است (۲۴).

مطالعه ای دیگر که در جهت بررسی بیان VEGF در بیماران مبتلا به سرطان پستان انجام گرفت، نشان داد که بیان VEGF افزایش



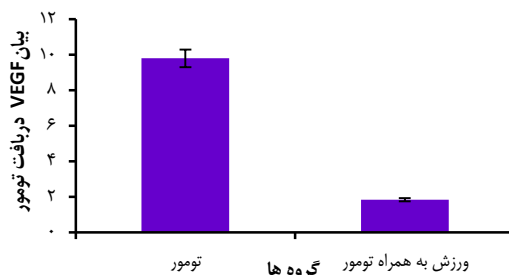
شکل ۳. اثر ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی بر رشد و حجم تومور پستان در موش

نتایج دیگر نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی، موجب افزایش معنی دار سطح سرم آیریسین در گروه ورزش ($5/33 \pm 0/86$ نانوگرم بر میلی لیتر) و ورزش به همراه تومور ($5/57 \pm 1/17$ نانوگرم بر میلی لیتر) نسبت به گروه تومور ($3/75 \pm 0/39$ نانوگرم بر میلی لیتر) شد ($P = 0/003$ برای هر دو مورد) (شکل ۴).



شکل ۴. مقایسه ای میانگین سطح سرمی آیریسین در گروه های مورد مطالعه

نتایج آزمون t نشان داد ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی، موجب کاهش معنی دار بیان ژن VEGF در بافت تومور در گروه ورزش به همراه تومور نسبت به گروه تومور شد ($P = 0/003$) (شکل ۵).



شکل ۵. تغییرات بیان ژن Vascular endothelial growth factor (VEGF) در بافت تومور در اثر ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی در موش با تومور پستان

آیریسین به گردش خون می‌تواند مهم باشد؛ به خصوص زمانی که عواملی مانند کاهش ناشی از سن در حجم عضله، کاهش در قدرت عضله و ظرفیت اکسیداتیو و انقباض پذیری عضله در افراد چاق غیر فعال مد نظر باشد.

همچنین، در خصوص بیان مکانیسم فیزیولوژیکی تأثیر تمرینات ورزشی بر سطوح آیریسین، به نظر می‌رسد عوامل مداخله‌گری مانند نوع، شدت و مدت فعالیت، جنسیت و سن آزمودنی‌ها، اثرات حاد و مزمن و همچنین، فاصله‌ی زمانی بین آخرین جلسه‌ی تمرین و روش نمونه‌گیری خونی و حتی خطاهای آماری و یا قوانین تکنیکی و روش بررسی بیان ژن، می‌تواند دلیل تفاوت با سایر مطالعات انجام شده باشد.

با توجه به مطالعات انجام گرفته در راستای نقش آیریسین بر روی رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی، فرض گردید که افزایش آیریسین در پاسخ به فعالیت ورزشی، به احتمال زیاد می‌تواند موجب کاهش در رشد و تکثیر تومور شود. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که میزان رشد حجم تومور در گروه ورزش به همراه تومور، کاهش یافته بود و همچنین، رابطه‌ی معنی‌داری نیز بین میزان سطوح آیریسین با نسبت رشد حجم تومور در این پژوهش مشاهده گردید. Gannon و همکاران، با بررسی اثرات غلظت‌های گوناگون آیریسین (همراه و بدون تغییر و تبدیل پس ترجمه‌ای) بر روی تعداد، زیست‌پذیری و مهاجرت سلول‌های اپی‌تلیال بدخیم و خوش‌خیم سرطان پستان نشان دادند که آیریسین، یک اثر مهارری روی تعداد سلول و ویژگی‌های مهاجرت در سلول‌های سرطان پستان بدخیم دارد و منجر به مرگ سلولی آپوپتوتیک می‌شود و ممکن است یک اثر ضد التهابی در تعامل با سیتوکاین‌هایی مانند TNF- α داشته باشد (۸).

Tekin و همکاران، اثرات احتمالی سیتوتوکسیک غلظت‌های متفاوت آیریسین (۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ نانومولار) را در ۳ نوع رده‌ی سلولی سرطان پروستات (DU-145، LNCaP و PC3) با استفاده از روش 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) بررسی کرده‌اند. تمام غلظت‌های آیریسین به کار رفته، اثرات ضد تکثیری بر روی سلول‌های LNCaP داشته است، اما کاهش در زیست‌پذیری به طور معنی‌داری تنها در دزهای بالا (۱۰ و ۱۰۰ نانومولار) مشاهده شده است. استفاده از غلظت‌های فیزیولوژیکی (۱۰ نانومولار) و فارماکولوژیکی (۱۰۰ نانومولار)، منجر به مرگ سلول در هر دو رده‌ی سلولی DU-145 و PC3 شده بود. در این مطالعه، آن‌ها نشان داده‌اند که درمان با غلظت‌های فیزیولوژیکی (۱۰ نانومولار) و پاتولوژیکی (۱۰۰ نانومولار) آیریسین، زیست‌پذیری سلول را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد و اثرات سیتوتوکسیک آیریسین بر روی انواع مختلف سلول‌های سرطان پروستات از یک الگوی وابسته به دز تبعیت می‌کند (۲).

بازری یافته است و پیشنهاد می‌کنند که مهار VEGF ممکن است با مهار آنژیوژنز سبب کاهش رشد تومور شود (۲۵). نتایج تحقیق حاضر، با یافته‌های مطالعه‌ی Jones و همکاران مغایرت داشت. آن‌ها افزایش در میزان VEGF و سرعت انتشار خون را پس از فعالیت ورزشی استقامتی نشان دادند (۲۶). از آن جایی که افزایش در میزان VEGF موجب افزایش رگ‌زایی و سرعت انتشار خون در بافت تومور می‌گردد، در مطالعه‌ی حاضر، کاهش میزان VEGF پس از فعالیت استقامتی مشاهده گردید که این کاهش در میزان VEGF، ممکن است موجب کاهش رگ‌زایی و در نهایت مهار رشد تومور شده باشد.

از طرف دیگر، در پژوهش حاضر نشان داده شد، میزان سطح سرمی آیریسین در گروه‌های ورزش و ورزش به همراه تومور، به طور معنی‌داری افزایش یافته است. مطالعاتی در مورد تأثیر فعالیت ورزشی بر میزان آیریسین انجام و نتایج متفاوتی حاصل شده است. برخی تأثیر مثبت فعالیت بدنی را تأیید نموده‌اند و برخی تغییری در سطح سرمی آیریسین مشاهده نکرده‌اند. از آن جایی که آیریسین یک مایوکاین واکنش به تمرین است، Bostrom و همکاران، نشان دادند که پس از ۱۰ هفته تمرین استقامتی با شدت حدود ۶۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه، مقادیر آیریسین در گردش خون افزایش می‌یابد (۵).

Tsuchiya و همکاران، به این نتیجه رسیدند که ترشح آیریسین بعد از فعالیت ورزشی حاد تحت تأثیر شدت فعالیت و مستقل از مصرف انرژی است (۲۷). Daskalopoulou و همکاران، در مطالعه‌ای با هدف برآورد چارچوب زمان تغییرات در سطوح آیریسین بعد از فعالیت شدید و بررسی اثر بارهای تمرینی و شدت‌های تمرینی متفاوت بر روی سطوح آیریسین در گردش خون بلافاصله بعد از تمرین، گزارش کرده‌اند که سطوح آیریسین در پاسخ به فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد که بعد از بار بیشینه، این افزایش بیشتر است که آن را مربوط به تقاضای انرژی عضله می‌دانند (۲۸).

البته، نتایج متناقضی با یافته‌های پژوهش حاضر و سایر پژوهش‌های گذشته نیز وجود دارد که نشان داده‌اند ۲۰ هفته تمرین استقامتی (۲۹)، ۱۲ هفته ترکیبی از تمرین استقامتی و قدرتی (۳۰) و ۲۱ هفته تمرین استقامتی یا ترکیبی با قدرت (۳۱)، اثری بر سطوح آیریسین ندارد. همچنین، برخی مطالعات با بررسی تمرینات هوازی حاد و مزمن با شدت ۸۵ و ۵۵ درصد بیشینه‌ی اکسیژن مصرفی بر روی افراد چاق نیز تغییر معنی‌داری را در سطوح آیریسین مشاهده نکرده‌اند (۳۲). بخشی از وجود تفاوت‌ها نسبت به سایر مطالعات که نتوانستند افزایش معنی‌دار آیریسین در گردش خون را نشان دهند، می‌تواند به دلیل تولید آیریسین از سایر اندام‌ها (نه فقط عضله) باشد. همچنین، حجم عضله نیز مانند یک عامل تأثیرگذار در میزان ترشح

مربوط دانست. بنابراین، پیشنهاد می‌شود برای مطالعات آینده در جهت بررسی دقیق و مؤثر نقش آیریسین بر روی رشد و تکثیر تومور، از آنتاگونیست آیریسین نیز استفاده گردد.

نتیجه‌گیری نهایی این که ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی قبل و بعد از القای سرطان، از یک طرف با افزایش سطح سرمی آیریسین و از طرف دیگر، با کاهش بیان ژن VEGF، در کاهش رشد سلول‌های سرطان پستان درگیر است. در نتیجه، می‌توان اثرات مثبت و نقش حفاظتی این مدل تمرین در کاهش روند رشد حجم تومور در سرطان پستان را تأیید نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله‌ی دکتری با کد ۴۰۱۴۷۰۰ می‌باشد که در دانشگاه خوارزمی به ثبت رسیده است. از مسؤولین انستیتو سرطان پستان دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت انجام هماهنگی و در اختیار قرار دادن فضا برای انجام تمرینات و اجرای فرایند تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

Provatoopoulou و همکاران نیز با ارزیابی قابلیت سطوح سرمی آیریسین در بین بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد سالم، کاهش معنی‌دار سطح سرم آیریسین را در بیماران سرطان پستان نسبت به گروه شاهد گزارش کردند. به این وسیله، آن‌ها عملکرد بالقوه‌ی آیریسین را مانند یک شاخص تشخیصی از وجود بیماری بیان کرده‌اند که می‌تواند مانند یک نشانگر جدید برای تعیین سرطان پستان و تشخیص اولیه‌ی آن به کار رود (۷).

بنابراین، هم‌راستا با پژوهش‌های پیشین و نتایج این مطالعه، در راستای اثرگذاری آیریسین بر رشد و تکثیر تومور، می‌توان ادعا کرد که این روند کاهش حجم و رشد تومور در پاسخ به ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی در گروه ورزش به همراه تومور از یک طرف می‌تواند ناشی از افزایش در میزان سطح آیریسین بافت عضلانی و از طرف دیگر، با کاهش بیان ژن VEGF در کاهش رشد سلول‌های سرطان پستان درگیر باشد. در نتیجه، می‌توان بر اثر مثبت فعالیت ورزشی در بازداری از رشد و تکثیر تومور در سرطان پستان تأکید کرد. هر چند به علت عدم استفاده از کیت آنتاگونیست آیریسین نمی‌توان به طور قطع کاهش در رشد و تکثیر تومور را تنها به تأثیرگذاری آیریسین

References

- Ahmadi AS, Mahdipour L, Payandeh M, Sadeghi M. Epidemiology, pathology and histochemistry features in women with breast cancer. *Am J Cancer Prev* 2015; 3(3): 54-7.
- Tekin S, Erden Y, Sandal S, Yilmaz B. Is irisin an anticarcinogenic peptide? *Med Science* 2015; 4(2): 2172-80.
- Friedenreich CM, Neilson HK, Lynch BM. State of the epidemiological evidence on physical activity and cancer prevention. *Eur J Cancer* 2010; 46(14): 2593-604.
- Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: Skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8(8): 457-65.
- Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481(7382): 463-8.
- Aydin S, Kuloglu T, Ozercan MR, Albayrak S, Aydin S, Bakal U, et al. Irisin immunohistochemistry in gastrointestinal system cancers. *Biotech Histochem* 2016; 91(4): 242-50.
- Provatoopoulou X, Georgiou GP, Kalogera E, Kalles V, Matiatou MA, Papapanagioutou I, et al. Serum irisin levels are lower in patients with breast cancer: Association with disease diagnosis and tumor characteristics. *BMC Cancer* 2015; 15: 898.
- Gannon NP, Vaughan RA, Garcia-Smith R, Bisoffi M, Trujillo KA. Effects of the exercise-inducible myokine irisin on malignant and non-malignant breast epithelial cell behavior in vitro. *Int J Cancer* 2015; 136(4): E197-E202.
- Longatto FA, Lopes JM, Schmitt FC. Angiogenesis and breast cancer. *J Oncol* 2010; 2010.
- Kut C, Mac GF, Popel AS. Where is VEGF in the body? A meta-analysis of VEGF distribution in cancer. *Br J Cancer* 2007; 97(7): 978-85.
- Farhanji B, Latifpour M, Alizadeh AM, Khodayari H, Khodayari S, Khaniki M, et al. Tumor suppression effects of myoepithelial cells on mice breast cancer. *Eur J Pharmacol* 2015; 765: 171-8.
- Tomanek RJ, Schatteman GC. Angiogenesis: New insights and therapeutic potential. *Anat Rec* 2000; 261(3): 126-35.
- Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux TL, McClellan JL, Steiner JL, Carmichael MD, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3(1)SV40Tag mice. *Cytokine* 2011; 55(2): 274-9.
- Betof AS, Dewhirst MW, Jones LW. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: a translational perspective. *Brain Behav Immun* 2013; 30 Suppl: S75-S87.
- 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. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2009; 31(2): 274-82.
- Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhaes-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* 2007; 21(3): 751-6.
- Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats

- and its changes with various experimental procedures. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 1979; 47(6): 1278-83.
18. Isanejad A, Alizadeh AM, Amani SS, Khodayari H, Khodayari S, Khorri V, et al. MicroRNA-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 Sci* 2016; 151: 30-40.
 19. Alizadeh AM, Sadeghizadeh M, Najafi F, Ardestani SK, Erfani-Moghadam V, Khaniki M, et al. Encapsulation of curcumin in diblock copolymer micelles for cancer therapy. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 824746.
 20. Khorri V, Amani SS, Isanejad A, Alizadeh AM, Alizadeh S, Khodayari S, et al. Effects of exercise training together with tamoxifen in reducing mammary tumor burden in mice: Possible underlying pathway of miR-21. *Eur J Pharmacol* 2015; 765: 179-87.
 21. Farsinejad S, Rahaie M, Alizadeh AM, Mir-Derikvand M, Gheisary Z, Nosrati H, et al. Expression of the circulating and the tissue microRNAs after surgery, chemotherapy, and radiotherapy in mice mammary tumor. *Tumour Biol* 2016; 37(10): 14225-34.
 22. Thompson HJ, Jiang W, Zhu Z. Candidate mechanisms accounting for effects of physical activity on breast carcinogenesis. *IUBMB Life* 2009; 61(9): 895-901.
 23. Zielinski MR, Muenchow M, Wallig MA, Horn PL, Woods JA. Exercise delays allogeneic tumor growth and reduces intratumoral inflammation and vascularization. *J Appl Physiol* (1985) 2004; 96(6): 2249-56.
 24. Zhao HC, Qin R, Chen XX, Sheng X, Wu JF, Wang DB, et al. Microvessel density is a prognostic marker of human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12(47): 7598-603.
 25. Huwer H, Welter C, Ozbek C, Seifert M, Straub U, Greilach P, et al. Simultaneous surgical revascularization and angiogenic gene therapy in diffuse coronary artery disease. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 20(6): 1128-34.
 26. Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, Kothadia SM, Keir ST, Freedland SJ, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. *J Appl Physiol* (1985) 2010; 108(2): 343-8.
 27. Tsuchiya Y, Ando D, Goto K, Kiuchi M, Yamakita M, Koyama K. High-intensity exercise causes greater irisin response compared with low-intensity exercise under similar energy consumption. *Tohoku J Exp Med* 2014; 233(2): 135-40.
 28. Daskalopoulou SS, Cooke AB, Gomez YH, Mutter AF, Filippaios A, Mesfum ET, et al. Plasma irisin levels progressively increase in response to increasing exercise workloads in young, healthy, active subjects. *Eur J Endocrinol* 2014; 171(3): 343-52.
 29. Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene? *Nature* 2012; 488(7413): E9-10.
 30. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1alpha, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J* 2014; 281(3): 739-49.
 31. Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, Ahtiainen JP, Horttanainen M, Pollanen E, et al. Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *J Physiol* 2013; 591(21): 5393-400.
 32. Winn NC, Liu Y, Heden TD, Nyhoff LM, Boyle LJ, Kanaley JA. Circulating irisin levels in response to acute and chronic exercise in obese adults. *Int J Exerc Sci* 2013; 11(1): 42.

The Effect of 8 Weeks of Interval Aerobic Exercise before and after Induction of Breast Cancer on Serum Level of Irisin and Tumor Growth in Balb/c mice

Samaneh Khalighfard¹, Hamid Rajbi², Reza Gharakhanlou³, Solmaz Khalighfard⁴,
Vahid Setoudeh¹, Ali Mohammad Alizadeh⁵

Original Article

Abstract

Background: Irisin is a myokine, can be used as a new indicator of relationship between exercise and reduction of incidence and progression of cancer. The aim of this study was to investigate the effect of 8 weeks of interval aerobic exercise before and after induction of breast cancer on serum level of irisin and tumor growth in Balb/c mice.

Methods: In this quasi-experimental study, 40 adult female Balb/c mice were randomly divided into four groups of control, tumor, exercise, and exercise with tumor. The main training with 70% and 50% of the maximum rate of oxygen consumption (VO₂max) intensity was performed 4 weeks before and 4 weeks after tumor induction. Tumor and exercise with tumor groups were cancerous with murine breast tumors of adenocarcinoma through subcutaneous surgery. Tumor growth was measured weekly, and at the end of the study, tumors were surgically removed. Serum irisin was measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to investigate the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene. Data were analyzed using Student's t and Pearson correlation tests at the significance level of $P < 0.05$.

Findings: There was a significant decrease in tumor growth rate in exercise group with tumor compared to tumor group. Serum levels of irisin increased significantly in exercise and exercise with tumor groups compared to control and tumor groups, respectively. The expression of vascular endothelial growth factor in exercise with tumor group showed a significant decrease compared to tumor group ($P = 0.003$). There was a significant correlation between irisin levels and tumor growth ratio in exercise with tumor group ($P < 0.001$, $r = -0.9162$).

Conclusion: It seems that positive regular aerobic exercises can reduce the growth of breast cancer cells in Balb/c mice by increasing the irisin level and decreasing expression of vascular endothelial growth factor.

Keywords: Aerobic exercise, Irisin, Breast cancer, Balb/c mice

Citation: Khalighfard S, Rajbi H, Gharakhanlou R, Khalighfard S, Setoudeh V, Alizadeh A. **The Effect of 8 Weeks of Interval Aerobic Exercise before and after Induction of Breast Cancer on Serum Level of Irisin and Tumor Growth in Balb/c mice.** J Isfahan Med Sch 2018; 35(459): 1775-84.

1- PhD Student, Department of Physiology, School of Physical Education and Sports Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

2- Professor, Department of Physiology, School of Physical Education and Sports Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

3- Professor, Department of Physical Education, School of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

4- PhD Student, Department of Biology, School of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

5- Cancer Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Ali Mohammad Alizadeh, Email: aalizadeh@sina.tums.ac.ir