علوم زیستی ورزشی _ تابستان ۱۳۹۲
شمارهٔ ۱۷ - ص ص : ۴۶- ۲۷
تاریخ دریافت : ۲۴ / ۱۲ / ۹۰
تاریخ تصویب : ۱۰ / ۰۴ / ۹۱

تأثیر شش هفته تمرین مقاومتی بر مقدار VEGF و اندوستاتین بافت توموری در موش‌های مبتلا به سرطان سینه

۱. مریم نورشاهی[۱]– ۲. ایوب بابایی – ۳. محمدرضا بیگدلی – ۴. مهدی قاسمی بیرامی

۱.دانشیار دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه شهید بهشتی،۲و۴.کارشناس ارشد دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه شهید بهشتی،۳.استادیار دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی

چکیده

سلول‌های توموری به‌منظور تامین اکسیژن و مواد غذایی و همچنین توسعهٔ شبکهٔ عروقی جدید به آنژیوژنز وابسته‌اند. در این میان VEGF به‌عنوان محرک مهم آنژیوژنز و اندوستاتین به‌عنوان بازدارنده، نقش اساسی در این فرایند ایفا می‌کنند. بنابراین هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر شش هفته تمرین مقاومتی بر مقدار VEGF و اندوستاتین بافت توموری در موش‌های مبتلا به سرطان سینه بود. به این منظور ۲۰ سر موش بالب سی ماده (۵ تا ۷ هفته‌ای) از طریق جراحی زیر جلدی تومور آدنوکارسینومای موشی سرطانی شدند. بعد از یک هفته استراحت به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند و سپس دورهٔ تمرین مقاومتی شش هفته‌ای (سه جلسه در هفته با شدت ۵۰ تا بیش از ۱۰۰ درصد حداکثر قدرت جلسهٔ قبل) اجرا شد. هر جلسه نیز شامل ۶ تا ۸ تکرار بالا رفتن از نردبان بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی موش‌ها بیهوش شده و بافت توموری آنها به‌سرعت فریز شد. پروتئین‌های اندوستاتین و VEGF بافت توموری از طریق وسترن بلات اندازه‌گیری شدند. آزمون t مستقل نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه از نظر مقادیر اندوستاتین، VEGF و نسبت افزایش حجم تومور وجود ندارد($P\geq۰/۰۵$). از آنجا که افزایش VEGF و کاهش اندوستاتین بعد از تمرینات ورزشی در عضله اسکلتی احتمالا موجب آنژیوژنز می‌شود، عدم تغییر این دو پروتئین در بافت توموری در تحقیق حاضر، می‌تواند نشان‌دهندهٔ بی‌تاثیر بودن تمرین مقاومتی بر روند آنژیوژنز بافت تومور و رشد آن باشد. بنابراین این نوع تمرینات را احتمالا می‌توان به‌عنوان مداخله بی‌خطر برای افراد مبتلا به سرطان سینه تجویز کرد.

واژه‌های کلیدی

VEGF، اندوستاتین، تمرین مقاومتی، موش بالب سی ماده، تومور آدنوکارسینومای موشی.

۱- نویسندهٔ مسئول : تلفن : ۰۲۱-۲۹۹۰۲۹۴۲ Email:m_nourshahi@sbu.ac.ir

مقدمه

سرطان سینه یکی از مهم‌ترین معضلات بهداشتی_درمانی در میان زنان است که از تکثیر بدخیم و بی‌رویهٔ سلول های اپیتلیال پوشانندهٔ مجاری یا لوبول های موجود در پستان به وجود می آید(۲۷). سرطان سینه شایع‌ترین سرطان در بین زنان و دومین دلیل مرگ ناشی از سرطان است. به‌طوری که ۳۳ درصد از کل سرطان‌های زنان را تشکیل می‌دهد و در ۱۹ درصد موارد به مرگ منجر می‌شود. شیوع سرطان سینه در بین زنان ایرانی در مقایسه با کشورهای غربی کمتر می باشد، ولی تظاهرات بیماری شدیدتر و میانگین سن ابتلا کمتر است.

در سرطان سینه نیز همانند دیگر سرطان ها، خوش‌خیم یا بدخیم بودن تومور یا نئوپلاسم[1] نشان‌دهندهٔ وخامت بیماری است(۳۴). تومورهای بدخیم برای رشد بیشتر از ۱ تا ۲ میلی‌متر مکعب نیازمند رشد شبکهٔ عروقی جدیدی برای تامین اکسیژن و مواد مغذی هستند. سازوکاری که موجب به وجود آمدن این شرایط برای رشد بافت توموری می‌شود، آنژیوژنز[2] یعنی به‌وجود آمدن مویرگ‌های جدید از مویرگ‌های قبلی است(۱۰). در سال ۱۹۴۵ آلجیر[3] و چالکلی[4] اولین کسانی بودند که نتیجه گرفتند رشد تومور برای توسعهٔ یک شبکهٔ عروقی درونی به آنژیوژنز وابسته است. در دههٔ ۱۹۷۰ نیز پزشک جراح فولکمن[5] اولین کسی بود که فرض کرد هدف‌گیری منبع خونی از طریق جلوگیری از آنژیوژنز، به توقف رشد تومور و حتی کوچک شدن آن منجر می‌شود و امروزه تئوری " آنژیوژنیک سوئیچ[6]" یعنی تنظیم تعادل بین مولکول‌های آنژیوژنیک و آنتی‌آنژیوژنیک در محیط کوچک تومور پذیرفته‌شده‌است. زمانی‌که فاکتورهای آنژیوژنیک بر تاثیر فاکتورهای آنتی‌آنژیوژنیک غلبه کنند، تومور ماهیت آنژیوژنیک به‌دست می‌آورد و به تشکیل رگ‌های خونی جدید و رشد تومور می‌انجامد و برعکس. مولکول‌های آنژیوژنیک و آنتی‌آنژیوژنیک که از سلول‌های سرطانی سرچشمه می‌گیرند با نوع و محل تومور تغییر می‌کنند، این مولکول‌ها با پیشرفت و برگشت تومور نیز تغییرپذیرند(۱۰).

1 . Neoplasm
2 . Angiogenesis
3 . Algire
4 . Chalkley
5 . Folkman
6 . Angiogenic switch

یکی از مهم ترین فاکتورهای آنژیوژنیک، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF[1]) است که قوی ترین میتوژن[2] رشدی مخصوص سلول‌های اندوتلیال، با وزن مولکولی ۳۵ تا ۴۵ کیلو دالتون است(۷). انواع مختلف سلول‌های سرطانی می توانند VEGF را در مقادیر زیاد بیان کنند. هایپوکسی که مشخصهٔ بارز تومور است، می‌تواند یک محرک مهم برای VEGF باشد. این تحریک VEGF موجب رشد، مهاجرت و بقای سلول‌های اندوتلیال و در نتیجه گسترش بیشتر شبکهٔ عروقی و رشد تومور می‌شود (۶). اما تحریک بیشتر فاکتورهای آنتی‌آنژیوژنیکی نسبت به فاکتورهای آنژیوژنیکی به کاهش روند آنژیوژنز می‌انجامد، در نتیجه سبب توقف رشد تومور و حتی بازگشت آن می‌شود. تحقیقات کلینیکی نقش آنتی‌آنژیوژنیک‌ها را در درمان سرطان نشان داده‌اند و اکنون آنتی‌آنژیوژنیک‌تراپی[3] به عنوان روش درمانی موثر استفاده می شود، که درمان با اندوستاتین[4] یکی از مؤثرترین آنهاست (۱۴). اندوستاتین قطعه ای جدا شده از کلاژن XVIII با وزن مولکولی۲۰ کیلو دالتون است که از طریق فرایند پرتئولیتیک[5] فعال می‌شود. توانایی اندوستاتین در بازدارندگی از رشد تومور و آنژیوژنز در تحقیقات به‌طور وسیع ثابت شده است، که با بازدارندگی از عملکرد سلول‌های اندوتلیال موجب توقف تاثیرگذاری آنها می‌شود (۱).

سطوح اندوستاتین و VEGF طی شرایط خاص مثل بیماری‌ها یا ورزش تحت تاثیر قرار می‌گیرد. تغییرات سطوح این فاکتورها طی بعضی از بیماری‌ها مثل بیماری‌های قلبی، عصبی-عروقی، روماتوئید، چاقی و سرطان به‌ویژه سرطان‌های سینه، پروستات و ریه مشخص شده است (۶،۱۳) ، اما تاکنون نقش ورزش و تمرینات ورزشی بر تغییرات همزمان سطوح اندوستاتین و VEGF در افراد مبتلا به سرطان بررسی نشده است، این در حالی است که در آزمودنی‌های دیگر نیز تحقیقات انگشت‌شماری تغییرات همزمان این فاکتورها را اندازه‌گیری کرده‌اند. برای مثال جیان و همکاران[6] (۲۰۰۴) نشان دادند که ۴ تا۱۰ دقیقه فعالیت روی تریدمیل تا رسیدن به ۸۰ تا ۹۳ ۹۳ درصد ضربان قلب بیشینه موجب افزایش سطوح پلاسمایی اندوستاتین و کاهش سطوح VEGF می شود(۱۶). در تحقیق دیگری نیز جیان و همکاران (۲۰۰۶) به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌دار اندوستاتین و VEGF را در بافت عضلانی موش‌ها بعد از سه هفته تمرین استقامتی گزارش کردند (۱۷).

1 . Vascular endothelial growth factor
2 . Mitogen
3 . Anti-angiogenic therapy
4 . Endostatin
5 . Proteolytic
6 . Gu & et al

تاکنون تحقیقی برای نشان دادن تغییرات سطوح اندوستاتین بعد از تمرینات مقاومتی انجام نگرفته است. اما افزایش VEGF وگیرنده‌های آن بعد از ورزش مقاومتی حاد مشاهده شده است(۱۵) که بروز این اتفاق بعد از تمرینات درازمدت مقاومتی در بافت تومور می‌تواند برافزایش رشد تومور مؤثر باشد، و از طرفی ثابت شده است که تمرینات مقاومتی موجب بهبود کیفیت زندگی و شاخص‌های عملکردی و روانی در افراد مبتلا به سرطان سینه می‌شود(۸،۲۹). بنابراین هدف از این تحقیق بررسی تاثیر شش هفته تمرین مقاومتی بر مقادیر اندوستاتین و VEGF بافت توموری در موش‌های مبتلا به سرطان سینه بود.

روش تحقیق

در این تحقیق ۲۰ سر موش بالب‌سی ماده[1] با وزن ۲±۱۸ گرم و سن ۵ تا ۷ هفته از مؤسسهٔ پاستور خریداری و به محیط آزمایشگاه انتقال داده شد. آنها در محیطی با دمای ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و چرخهٔ روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. غذای حیوانات به‌صورت آزاد و در اختیار[2] تا پایان پروتکل در دسترس بود. موش‌ها در هفتهٔ اول با شرایط زندگی در آزمایشگاه و هفتهٔ دوم طی سه جلسه با دستگاه قدرتی نردبان آشنا شدند. در پایان هفتهٔ دوم از طریق جراحی زیرجلدی موش‌ها سرطانی شده و در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. تومور مورد بررسی از نوع آدنوکارسینومای موشی[3] بود که از بدن موش حامل هم‌نژاد جدا شده و پس از بیهوش کردن حیوانات (تزریق داخل صفاقی محلول زایلازین و کتامین) به پهلوی راست آنها پیوند زده شد. بعد از یک هفته استراحت موش‌ها به‌صورت تصادفی به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند و سپس پروتکل تمرین مقاومتی آغاز شد.

تمرین قدرتی شامل بالا رفتن از نردبان (طول ۱ متر، شیب ۸۵ درجه و ۲ سانتی‌متر فضای بین هر پله) بود که سه جلسه در هفته و به مدت شش هفته انجام گرفت. در اولین جلسهٔ تمرین و به‌منظور انجام تکرار اول، ۵۰ درصد وزن بدن موش‌ها به دمشان متصل شد و به ترتیب ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد برای هر تکرار افزایش یافت. اگر

1 . Female Balb/c mice
2 . Libitum
3 . Mouse Adenocarcinoma

موش قادر به حمل بار بود، با هر تکرار موفق، ۳ گرم به کیسهٔ حاوی وزنه اضافه می‌شد تا حیوان به واماندگی می‌رسید. وزنهٔ حمل‌شده قبل از واماندگی، به‌عنوان وزنهٔ حداکثر، برای طراحی پروتکل جلسه بعد استفاده می‌شد. بنابراین برای جلسه‌های بعدی تمرین به‌ترتیب ۵۰، ۷۵، ۹۰، ۱۰۰ درصد وزنهٔ حداکثر جلسهٔ قبل و به ازای هر تکرار موفق ۳ گرم اضافه درنظر گرفته می‌شد. با این تفاوت که بعد از واماندگی هر موش با ۷۰ درصد حداکثر وزنه به تمرین ادامه می‌داد، به‌طوری‌که هر جلسهٔ تمرین شامل حداقل ۶ و حداکثر ۸ تکرار بود. بین هر تکرار نیز ۲ دقیقه استراحت وجود داشت که با رسیدن موش به بالای نردبان این استراحت شروع می شد و بعد از اتمام وزنه مورد نظر به کیسه متصل به دم موش اضافه می‌شد و موش به پایین نردبان انتقال می‌یافت(۲۶). در صورت نیاز نیز دم موش‌ها به‌منظور ایجاد انگیختگی لمس می‌شد. هر دو روز یک بار نیز طول و عرض تومور از طریق کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول محاسبهٔ حجم تومور[1] مقدار آن براساس میلی‌متر مکعب تعیین شد. عدد محاسباتی روز آخر به عدد روز اول تقسیم شد و مقدار نهایی حجم تومور به‌دست آمد.

به‌منظور از بین بردن تاثیر کوتاه‌مدت ورزش، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ پروتکل تمرین تمامی موش‌ها کشته شده و بافت توموری به‌سرعت از بدن آنها خارج و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد فریز گردید. مقادیر اندوستاتین و VEGF بافت تومور توسط آزمایش وسترن بلات[2] اندازه‌گیری شد. به این صورت که ابتدا بافت توموری در بافر لیزکننده[3] (500 µL Tris-HCL, PH= 8, 0.003 gr EDTA, 0.08 gr NaCl, gr Sodium Deoxycholate, 0.01 gr, SDS, 1 tablet Protease inhibitor cocktail, 10 µL NP40 (0.1%)) به مدت ۶۰ ثانیه در هموژنایزر ۴۰۰۰ rpm هموژن شد. سپس بافت هموژن‌شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید .پروتئین‌ها در مایع شفاف بالایی (Supernatant) محلول می باشند که جدا شده و در فریزر ۸۰- درجه تا زمان لازم نگهداری شدند. آزمایش وسترن بلات براساس پروتکل مشخص انجام گرفت. به‌طور خلاصه نمونه‌های پروتئینی تهیه‌شده، با بافر نمونه[4] (10 ml Tris (PH=6.8), 12.5 ml Glycerol, 2.5 ml β -mercapto ethanol, 0.01 gr Bromo phenol Blue, 25 ml SDS (10%)) ترکیب شده و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ تا۱۰ دقیقه

1 . [Tumor volume=(length*(width)2 /2]
4 . Western blot
3 . Lysis buffer
4 . Sample buffer

جوشانده شدند. در ادامه لایزت پروتئین در معرض SDS-page ۱۲/۵٪ - ۵٪ قرار داده شده و پروتئین‌ها به غشای نیتروسلولوزی انتقال داده شدند. در ادامه از طریق آنتی‌بادی‌های اختصاصی اندوستاتین (anti-Endostatin, Abcam, England) و VEGF (anti-VEGF, Abcam, England) مقادیر این پروتئین‌ها شناسایی شده و در نهایت با تهیه فیلم عکاسی از باندهای پروتئینی و تحلیل آنها با نرم‌افزار image-j چگالی باندها محاسبه شد. از آنجا که β –actin جزء پروتئین‌هایی است که میزان بیان آن در سلول ثابت است، از آنتی‌بادی این پروتئین برای حذف خطای لود کردن مقادیر مساوی پروتئین در چاهک‌ها استفاده شد.

از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و از آزمون t مستقل در سطح P <۰/۰۵ برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS انجام گرفت.

نتایج و یافته‌های تحقیق

الف) VEGF

نتایج این بررسی نشان داد که تغییرات مقدار VEGF در بافت توموری گروه تمرین نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود (P=۰/۱۸۸ ،۱/۴۴۱- =(۹)t)، (شکل ۱). آزمایش وسترن بلات (شکل۱) نشان داد که چگالی باند VEGF نسبت به باند β Actin در گروه تمرین ۰/۰۳۸۱ ± ۰/۲۴۸۹ و در گروه کنترل ۰/۰۸۹۶ ± ۰/۱۸۶۱ است.

ب) اندوستاتین

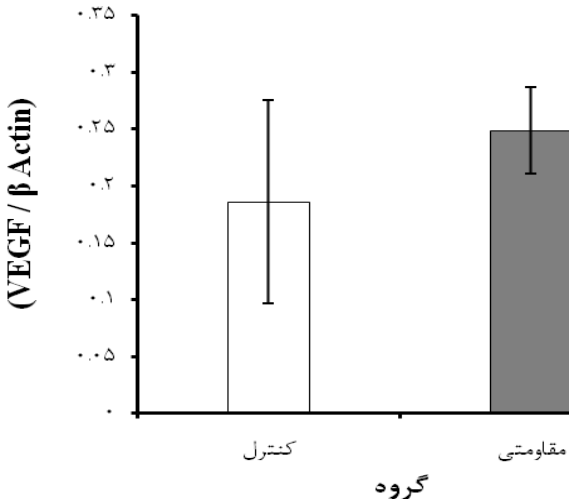
در مورد اندوستاتین بافت توموری بین دو گروه تفاوت معنی داری مشاهده نشد (P=۰/۸۷۱، ۰/۱۶۷- = (۹)t)، (شکل ۲). آزمایش وسترن بلات (شکل ۲) نشان داد که چگالی باند اندوستاتین نسبت به باند β Actin در گروه تمرین ۰/۴۷۳۲ ± ۱/۲۸۱۴ و در گروه کنترل در حدود ۰/۴۳۸۴ ± ۱/۲۳۳۲ بود.

ج) حجم تومور

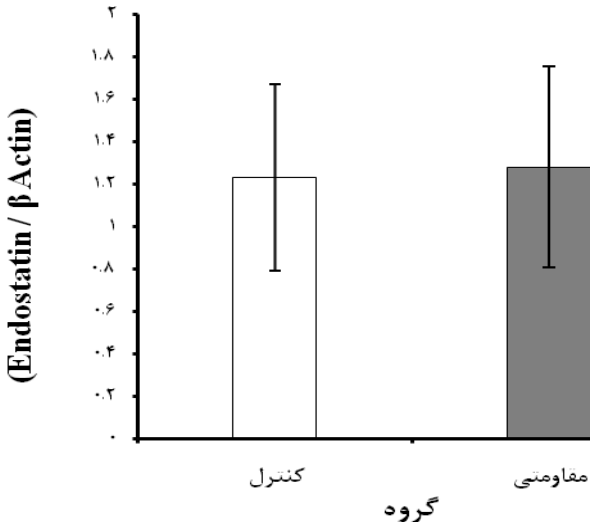
براساس نتایج تحقیق حاضر تغییرات حجم تومور در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود (t(۹) = -۱/۲۹۱، P=۰/۲۳۳) (شکل ۳). نتایج آمار توصیفی نشان داد که میانگین نسبت تغییرات حجم تومور(حجم نهایی به حجم اولیه) در گروه کنترل ۲۰/۹۳ و در گروه تمرین ۱۸/۲۲ بود (جدول ۱).

شکل ۱: آزمایش وسترن بلات VEGF

شکل ۲: آزمایش وسترن بلات اندوستاتین



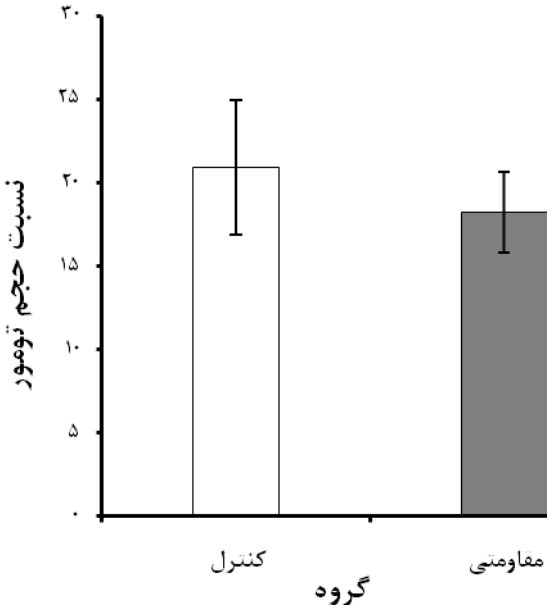
شکل ۳ – میانگین (±انحراف معیار) مقادیر VEGF در گروه تمرین مقاومتی و گروه کنترل



شکل ۴ – میانگین (±انحراف معیار) مقادیر اندوستاتین در گروه تمرین مقاومتی و گروه کنترل

جدول ۱- میانگین (±انحراف معیار) نسبت افزایش حجم تومور در گروه تمرین و کنترل

متغیر / گروه	میانگین حجم تومور در اندازه‌گیری اولیه (میلی‌متر مکعب)	میانگین حجم تومور در اندازه‌گیری پایانی (میلی‌متر مکعب)	میانگین نسبت افزایش حجم تومور
کنترل	۱۶/۹ ±۸۴/ ۱	۵۰۴/۲ ± ۱۷۶۶	۴ ± ۲۰/۹
تمرین	۴۵/۷ ± ۹۱/۸	۹۱۵/۶ ± ۱۶۹۵	۲/۳ ± ۱۸/۲



شکل ۵- میانگین (±انحراف معیار) نسبت افزایش حجم تومور در دو گروه تمرین و کنترل

بحث و نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد که شش هفته تمرین مقاومتی به تغییرات معنی‌دار در مقادیر پروتئین VEGF بافت توموری موش‌های مبتلا به سرطان سینه منجر نشد. تاکنون هیچ تحقیقی در زمینهٔ ارتباط فعالیت ورزشی مقاومتی با VEGF در تومورهای سرطانی گزارش نشده است. در مورد تمرین استقامتی نیز تعداد تحقیقات انگشت‌شمار است. به‌طوری‌که نتایج تحقیق حاضر ناهمخوان با یافته‌های ژو و همکاران[1] (۲۰۰۸) و همخوان با نتایج جونز و همکاران[2] (۲۰۰۹) است. در تحقیق ژو و همکاران، تومور سینه از طریق تزریق 1-methyl-1-nitrosourea ایجاد شده بود، درحالی‌که در تحقیق حاضر نوع تومور، آدنوکارسینومای موشی بود که از طریق

1 . Zhu & et al
2 . Jones & et al

پیوند زیرجلدی ایجاد شد. همچنین پروتکل ورزشی آنها دویدن اختیاری روی چرخ‌گردان بود و موش‌ها به‌طور متوسط ۷/۸ مایل در روز می‌دویدند، درحالی‌که در تحقیق حاضر نوع تمرین مقاومتی و شامل بالا رفتن از نردبان بود (۳۶). نتایج جونز و همکاران (۲۰۰۹) نیز موافق با یافته‌های تحقیق حاضر است، اما در تحقیق آنها نیز از پروتکل ورزشی دویدن اختیاری روی چرخ گردان استفاده شده بود(۲۲). همچنین آنها در تحقیق خود از پیوند سلول‌های آدنوکارسینومای انسانی در موش‌ها استفاده کرده بودند. صرف نظر از نوع بافت و آزمودنی نتایج این تحقیق موافق تحقیق اگاوا و همکاران[1] (۲۰۱۰) نیز بود. در تحقیق اگاوا آزمودنی های سالمند یک بار در هفته و به مدت ۱۲ هفته با کابل کشی تمرین مقاومتی انجام دادند، درحالی‌که در تحقیق حاضر موش‌های سرطانی سه روز در هفته به مدت شش هفته با وزنه تمرین انجام دادند(۲۳). سی‌کات و همکاران[2] (۲۰۰۷) اظهار داشتند که اختلاف در مقادیر VEGF ممکن است ناشی از تفاوت در نوع تومور، روش‌های آزمایشگاهی اندازه‌گیری VEGF و نوع آزمودنی‌ها باشد(۲۴). در مورد تحقیقات ورزشی نیز ثابت شده است که شدت و مدت تمرینات می‌تواند بر VEGF اثر بگذارد(۲۸). پس به‌نظر می‌رسد با توجه به نتایج متناقض تحقیقات پیشین و تحقیق حاضر، سازوکار تأثیرگذاری تمرینات ورزشی بر تغییرات VEGF در بافت‌های بدن مبهم و نامشخص است.

به‌طورکلی مهم‌ترین دلیل افزایش VEGF در بافت‌های بدن به‌ویژه در بافت توموری، هایپوکسی ذکر شده است (۶) که از طرفی به تولید آدنوزین منجر می‌شود و از طریق گیرنده‌های آدنوزین موجود روی سلول‌های اندوتلیال موجب افزایش تکثیر سلولی می‌شود که احتمالا از این طریق در افزایش VEGF نقش دارد. همچنین هایپوکسی افزایش مقادیر HIF-1α[3] را به‌دنبال خواهد داشت. HIF-1α از طریق پیوند با HRE، فاکتورهای رشدی مانند VEGF و VEGFR1[4] را افزایش می دهد(۱۸). طی ورزش مقاومتی نیز منبع اکسیژن در عضلات فعال ناکافی به‌نظر می‌رسد، پس ایجاد هایپوکسی موضعی در عضلهٔ فعال قابل انتظار است. از آنجا که افزایش مقادیر HIF-1α طی ورزش مسلم است، افزایش مقادیر VEGF و آغاز آنژیوژنزیز اتفاق می‌افتد(۹). اما این سازوکار مربوط به عضلات فعال می باشد و از آنجا که اثرگذاری تغییرات جریان خون حین ورزش بر جریان خون تومور مشخص نیست، احتمال دارد که ورزش مقاومتی مورد استفاده در این تحقیق و تغییرات توزیع مجدد

1 . Ogawa & et al
2 . Cut C & et al
3 . Hypoxia-inducible factor-1α
4 . VEGF receptor 1

جریان خون ناشی از آن بر فشار هایپوکسی و در نتیجه تحریک HIF-1α درون تومور تاثیر چندانی نگذاشته و عامل مؤثری بر فعالیت متابولیکی بیشتر تومور و کاهش بیشتر فشار اکسیژن آن نبوده است، پس احتمالا هایپوکسی ناشی از ورزش مقاومتی بر تحریک VEGF تومور تاثیر ندارد.

از طرفی HIF1-α جذب‌کنندهٔ ماکروفاژها محسوب می‌شود که عامل اثرگذار و کلیدی در آنژیوژنزیز تومور به‌شمار می‌روند (۳۰). در طی رشد تومور، ماکروفاژها به داخل آن نفوذ کرده و نقش دوگانه‌ای ایفا می‌کنند، به این صورت که ماکروفاژهای مرتبط با تومور(TAMs[1]) با ترشح فاکتورهای ضدتوموری مثل IFN-γ[2]، IL12[3] و MMP2[4] موجب ایجاد پاسخ ایمنی می‌شوند که به طور معمول تومور با این شرایط به‌راحتی مقابله می‌کند. از طرفی فاکتورهای آنزیوژنیک را نیز ترشح می‌کنند که VEGF، TNFα[5]، IL8[6] و MMP9[7] از این جمله‌اند(۲۵). تاکنون تاثیر تمرینات مقاومتی بر عملکرد ماکروفاژها به ویژه در تومور بررسی نشده است. در مورد سایتوکاین‌های ذکرشده نیز تاثیر تمرین مقاومتی نتایج ضد و نقیضی را نشان می‌دهد (۵)، اگرچه باز هم این تحقیقات در مورد بافت توموری نبوده است. بنابراین با توجه به نتایج تحقیق حاضر احتمال دارد که تمرین مقاومتی تاثیری بر سایتوکاین‌های محرک یا بازدارندهٔ مترشحه از TAMs نگذاشته است، پس مقادیر VEGF به این دلیل چندان تحت تاثیر قرار نگرفته است.

علاوه‌بر مولکول‌های محلول و غشایی، نیروهای مکانیکی نیز در تحریک VEGF نقش دارند. تحقیقات نشان داده‌اند که VEGF عضلاتی که در معرض اضافه بار، انقباض و هایپرمیا هستند، افزایش می‌یابد. در حین انجام تمرینات مقاومتی انقباض و کشش عضلات افزایش یافته و جریان خون عضله نیز ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش می‌یابد و موجب افزایش تنش برشی[8] می‌شود، در نتیجهٔ این نیروی مکانیکی، سلول‌های اندوتلیال دچار کشش شده و افزایش سرعت رهاسازی VEGF را موجب می‌شوند(۱۲). احتمالا فشارهای مکانیکی تولید شده باعث تحریک

1 . Tumor-associated macrophages
2 . Interferon-γ
3 . Interleukin-12
4 . Matrix metalloproteinases-2
5 . Tumor necrosis factor-α
6 . Interleukin-8
7 . Matrix metalloproteinases-9
8 . Shear stress

NO[1] و آزادسازی آن از nNOS نیز می‌شود. تحقیقات زیادی نشان داده‌اند NO در فعال‌سازی مسیر سیگنالی VEGF نقش کلیدی دارد(۱۹). با این تفاسیر مشخص می‌شود که بافت تومورکه مانند عضله در معرض اضافه بار، انقباض و تنش برشی زیادی قرار نمی‌گیرد. زیرا احتمالا درحین ورزش سرعت جریان خون لازم برای ایجاد تنش برشی مؤثر را ندارد و از طرفی مانند عضلات در معرض کشش عضلانی قرار نمی‌گیرد. پس یکی از مؤثرترین سازوکارهای تحریک VEGF را از دست می‌دهد و این مسئله ممکن است یکی از علل عدم تفاوت گروه تمرین و کنترل از نظر مقدار VEGF باشد.

تحقیق حاضر همچنین نشان داد که شش هفته تمرین مقاومتی تغییرات معنی‌داری در مقادیر پروتئین اندوستاتین بافت توموری در موش‌های مبتلا به سرطان سینه به وجود نیاورد. تاکنون هیچ نوع تحقیقی در زمینهٔ ارتباط فعالیت ورزشی با اندوستاتین در تومورهای سرطانی انجام نگرفته و در مورد ارتباط فعالیت ورزشی مقاومتی و اندوستاتین نیز تحقیقی گزارش نشده است. تنها چند مورد تحقیق، تأثیر تمرینات ورزشی استقامتی را بر مقدار اندوستاتین بررسی کرده‌اند. که در این زمینه جیان و همکاران (۲۰۰۶) و بریکسیوس و همکاران[2] (۲۰۰۷) کاهش مقادیر پروتئین اندوستاتین را بعد از تمرینات استقامتی نشان دادند(۴،۱۷). سیدا و همکاران[3] (۲۰۰۳) هم این کاهش را گزارش کردند، اگرچه معنی‌دار نبود(۳۳). یافته‌های این تحقیقات مغایر یافته‌های تحقیق حاضر است. در همهٔ تحقیقات ذکرشده از تمرین استقامتی استفاده شد، اما نوع تمرین در تحقیق حاضر مقاومتی بود. همچنین جیان و همکاران (۲۰۰۶) مقدار پروتئین اندوستاتین را در عضلهٔ موش‌های سالم اندازه گیری کردند، درحالی‌که بریکسیوس و همکاران (۲۰۰۷) مقادیر پلاسمایی اندوستاتین را در افراد چاق و سیدا و همکاران (۲۰۰۳) در افراد دارای اضافه وزن بررسی کردند، اما در این تحقیق پروتئین اندوستاتین در بافت توموری موش‌ها اندازه گیری شد. پس همانند VEGF، احتمالا تفاوت در نوع آزمودنی‌ها، روش‌های آزمایشگاهی اندازه‌گیری، بافت اندازه‌گیری شده و همچنین نوع، شدت و مدت تمرینات ممکن است بر مقادیر اندوستاتین نیز تاثیرگذار باشند.

سازوکارهای تأثیرگذاری تمرین ورزشی به ویژه تمرین مقاومتی، بر مقدار اندوستاتین در بافت توموری نامشخص بوده و بحث‌برانگیز است. احتمالا ورزش خاصیت چسبندگی اندوستاتین را در بافت فعال کاهش می‌دهد، از

1 . Nitric oxide
2 . Brixius & et al
3 . Seida & et al

طرفی همان‌طورکه اشاره شد، در حین تمرین مقاومتی جریان خون به سمت عضله فعال افزایش می‌یابد، پس اندوستاتین را از بافت فعال به سمت جریان خون حمل می‌کند. در نتیجه مقدار اندوستاتین در بافت فعال کاهش و در جریان خون افزایش می‌یابد(۱۶). اما این سازوکار مربوط به بافت‌های فعال حین ورزش است و از طرفی برای وقوع آن به جریان خون زیادی نیاز است. احتمالا در حین ورزش شدت فعالیت تومور به اندازهٔ عضله نیست، پس ممکن است تغییر چندانی در چسبندگی اندوستاتین تومور ایجاد نکند. حتی اگر این کاهش چسبندگی نیز به‌وجود آمده باشد، احتمال اینکه جریان خون در حین تمرین مقاومتی به سمت بافت تومور افزایش یابد، کم است و در نتیجه تغییری در اندوستاتین بافت تومور به‌وجود نمی‌آید. گرچه سازوکار ترشح اندوستاتین نامشخص است، اما بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند رهاسازی پروتئولیتیکی اندوستاتین از انتهای کربکسی کلاژن XVIII از طریق پروتئازهایی مانند متالوپروتئازها (MMPs) میانجی‌گری می‌شود(۱۲). همان طورکه گفته شد فشار مکانیکی که طی ورزش بر اثر انقباض عضلانی و تنش برشی به وجود می‌آید، کشش سلول‌های اندوتلیال را به دنبال دارد و بازآرایی سایتواسکلتون[1] و آزادسازی فعال‌کننده‌های پلاسمینوژن[2] را موجب می‌شود که این عوامل موجب آزادسازی MMPs و در نتیجه تجزیهٔ ماتریس برون‌سلولی و غشای پایه می‌شود و رهاسازی اندوستاتین را به‌دنبال خواهد داشت(۲۰). پس به‌دلیل قرار نگرفتن تومور در این شرایط مکانیکی، MMPs تحریک نشد و مقدار اندوستاتین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت چندانی نداشت. البته تقسیم ماتریس برون‌سلولی از طریق الاستاز[3] و کازپسین L[4] نیز موجب افزایش تولید اندوستاتین می‌شود و نشان داده شده است که نقش مهم‌تری در این مورد ایفا می‌کنند(۱۲)، اما تحقیقات به تاثیر تمرینات قدرتی بر تغییرات آنها را بررسی نکرده‌اند و نمی‌توان در مورد نقش آن ها در تولید اندوستاتین تومور با قاطعیت صحبت کرد. اما این احتمال که فشارهای مکانیکی در تحریک آنها نقش داشته باشند، وجود دارد، بنابراین با این تفاسیر الاستاز و کازپسینL در حین تمرین مقاومتی مثل MMPs بیشتر بر عضله فعال تاثیر خواهند داشت تا تومور.

1 . Cytoskeleton
2 . Plasminogen activators
3 . Elastase
4 . Cathepsin L

بعضی محققان در مورد با تغییرات اندوستاتین و VEGF در بافت تومور، فرض کرده‌اند که افزایش مقادیر VEGF علاوه بر تحریک رشد سلول‌های اندوتلیال در تومور، محرکی برای افزایش کلاژنازها و پروتئازهای سلول اندوتلیال برای رهاسازی اندوستاتین محسوب می‌شود(۱۱)، پس افزایش VEGF در بافت تومور، اندوستاتین را نیز افزایش می‌دهد. بنابراین می‌توان احتمال داد که بی‌تغییر ماندن VEGF بر اثر تمرین مقاومتی در تومور عاملی بر عدم تغییر اندوستاتین باشد. اما این موضوع در حد فرضیه باقی مانده است، زیرا در تحقیق زاهو و همکاران[1] (۲۰۰۴) کاهش مقادیر VEGF بعد از برداشتن تومور سرطان سینه مشاهده شد، اما مقادیر اندوستاتین بدون تغییر باقی ماند(۳۵).

تحقیق حاضر همچنین نشان داد که شش هفته تمرین مقاومتی در موش‌های مبتلا به سرطان سینه به وقوع تغییرات معنی‌دار در حجم تومور نسبت به گروه کنترل منجر نشد. تاکنون تاثیر تمرین مقاومتی بر حجم تومور بررسی نشده، اما در زمینهٔ تمرین استقامتی چندین تحقیق صورت گرفته است، به‌طوری‌که نتایج تحقیق حاضر مخالف با یافته‌های آلمیدا و همکاران[2] (۲۰۰۹) و زیلنیسکی و همکاران[3] (۲۰۰۴) و موافق با یافته های لی‌جونز و همکاران(۲۰۰۵) است.

آلمیدا و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که تمرینات زیر بیشینه به‌صورت شنا کردن در آب، به کاهش حجم تومور ارلیشا در موش‌ها انجامید. آنها تغییر تعادل انرژی بدن را علت کاهش حجم تومور ندانستند و گفتند که تمرینات زیر بیشینه تأثیر ناچیزی بر این تعادل دارد(۳). پس کاهش حجم تومور ممکن است ناشی از افزایش کالری مصرفی بدن به‌دلیل افزایش فعالیت عضلانی و کاهش کالری دریافتی(غذای مصرفی) به‌دلیل خستگی و خواب آلودگی ناشی از فعالیت ورزشی طولانی باشد. افزایش کالری مصرفی از یک سو و کاهش کالری دریافتی از سوی دیگر موجب می‌شود انرژی در دسترس سلول‌های سرطانی جهت تکثیر کمتر باشد و این مسئله در نهایت به کاهش رشد تومورها خواهد انجامید. در تحقیق حاضر مقدار غذای مصرفی و تعادل انرژی بدن موش‌ها ارزیابی نشد، ولی نشان داده شد که وزن بدن موش‌ها تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت ($P>۰/۰۵$). از طرف دیگر شدت و مدت تمرین در تحقیق حاضر به گونه‌ای نبود که به خستگی و در نتیجه کاهش کالری

1 . Zhao & et al
2 . Almeida & et al
3 . Zielinski & et al

دریافتی در موش‌ها منجر شود. بنابراین به‌نظر می‌رسد در تحقیق حاضر عدم تغییر در تعادل انرژی بدن می‌تواند دلیلی بر عدم تغییر حجم تومور باشد.

زیلنیسکی و همکاران(۲۰۰۴) نیز کاهش حجم تومور را بعد از چهار هفته تمرین استقامتی گزارش کردند(۳۷). آلمیدا و زیلنیسکی در تحقیقاتشان کاهش حجم تومور در اثر تمرین ورزشی را به نفوذ ماکروفاژها در بافت توموری نسبت دادند. تحقیقات مختلفی ارتباط بین نفوذ ماکروفاژها با رشد تومور در انواع مختلف تومورهای سرطانی را بررسی کرده‌اند. همان طور که در بحث تغییرات VEGF گفته شد در محیط تومور، TAMs علاوه‌بر فاکتورهای رشدی و آنژیوژنیک، فاکتورهای ضد تومور نیز رهاسازی می‌کنند، که این فاکتورها می‌توانند موجب تحریک یا عدم تحریک آنژیوژنز در تومور شوند و احتمالا از این طریق در افزایش یا کاهش حجم تومور ایفای نقش کنند. حال با توجه به عدم تفاوت بین دو گروه در مورد حجم تومور احتمالا تمرین مقاومتی تاثیری بر سایتوکاین‌های محرک یا بازدارندهٔ مترشحه از TAMs نگذاشته است. اما در زمینهٔ تغییرات ماکروفاژها و سایتوکاین‌ها در تومور بر اثر تمرین مقاومتی تحقیقی در دست نیست و نمی‌توان به‌طور قطع علت عدم تفاوت را، عدم تغییر ماکروفاژها و سایتوکاین‌ها بر اثر شش هفته تمرین مقاومتی دانست.

در تحقیق لی‌جونز و همکاران(۲۰۰۵) منحنی رشد تومور سینه در موش‌های گروه کنترل با موش‌های گروه تمرین مشابه بود و تفاوتی با هم نداشت. آنها ادعا کردند که تمرینات زیر بیشینهٔ ورزشی نمی‌تواند سازوکارهای بیولوژیکی مؤثر در مهار سرطان سینه را تحت تأثیر قرار دهد و در این راستا شدت تمرینات باید بیش از ۷۰ درصد توان هوازی فرد باشد(۲۱). بنابراین شدت تمرین استقامتی می تواند عامل مؤثری در تغییرات حجم تومور باشد و این ممکن است در مورد تمرینات مقاومتی نیز صادق باشد. پس کافی نبودن شدت تمرین تحقیق حاضر احتمالا عامل مؤثری بر عدم تفاوت بین دو گروه است، در این مورد به تحقیقات بیشتری نیاز است و نمی‌توان با قطعیت بحث کرد.

بعضی تحقیقات کاهش حجم تومور را بعد از تمرین استقامتی به کاهش تظاهر HSP70[1] نسبت داده‌اند(۲). در مورد تمرین مقاومتی نیز تحقیقات زیادی افزایش HSP70 را بعد از تمرینات مقاومتی در عضله نشان داده و مقدار تغییرات آن را به مقدار کلی تمرین مرتبط دانسته‌اند(۳۱). هر چند تغییرات آن در تومور بررسی نشده

1 . Heat shock protein 70

است، ولی با توجه به تفاوت ناچیز بین نسبت تغییرات حجم تومور در دو گروه، مناسب نبودن شدت تمرین حاضر یا سازوکار متفاوت اثرگذاری تمرین مقاومتی بر مقادیر HSP70 تومور محتمل است.

به‌طورکلی با توجه به اینکه پروتئین‌های VEGF و اندوستاتین بعد از تمرینات ورزشی در عضلهٔ اسکلتی به‌ترتیب افزایش و کاهش می‌یابند و این می‌تواند نشان‌دهندهٔ رخداد آنژیوژنزیز باشد، پس احتمال دارد که عدم تغییر این دو پروتئین در بافت توموری و همچنین عدم تفاوت تغییرات حجم تومور در دوگروه تحقیقی، نشان‌دهندهٔ بی‌تاثیر بودن تمرین مقاومتی بر آنژیوژنز و رشد تومور باشد و با توجه به اینکه تحقیقات نشان داده‌اند که این نوع تمرینات موجب بهبود ظرفیت عملکردی روانی و جسمانی و همچنین کیفیت زندگی افراد مبتلا به سرطانی می‌شود، پس احتمالا می‌تواند به‌عنوان یک مداخله بی خطر در برنامهٔ افراد مبتلا به سرطان قرار گیرد.

منابع و مآخذ

1.Abdollahi,A.,P.Hahnfeldt, et al. (2004). "Endostatin's antiangiogenic signaling network." Mol Cell 13(5): PP:649-663.

2. Agha, A. H., A. Toufighi, et al. (2008). "The effect of continuous aerobic exercise on the rate of hsp70 in mice with breast cancer tumor." Olympic.

3. Almeida, P. W., A. Gomes-Filho, et al. (2009). "Swim training suppresses tumor growth in mice." J Appl Physiol 107(1): PP:261-265.

4. Brixius, K., S. Schoenberger, et al. (2008). "Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50-60 years." Br J Sports Med 42(2): PP:126-129; discussion 129.

5. Calle, M. C. and M. L. Fernandez (2010). "Effects of resistance training on the inflammatory response." Nutrition research and practice 4(4): P:259.

6. Carmeliet, P. and R. K. Jain (2000). "Angiogenesis in cancer and other diseases." Nature 407(6801): PP:249-257.

7. Christopoulos, A., S. M. Ahn, et al. (2010). "Biology of vascular endothelial growth factor and its receptors in head and neck cancer: Beyond angiogenesis." Head Neck.

8. De Backer, I. C., E. Van Breda, et al. (2007). "High-intensity strength training improves quality of life in cancer survivors." Acta Oncologica 46(8): PP:1143-1151.

9. Egginton, S. (2009). "Invited review: activity-induced angiogenesis." Pflügers Archiv European Journal of Physiology 457(5): PP:963-977.

10. Eichhorn, M., A. Kleespies, et al. (2007). "Angiogenesis in cancer: molecular mechanisms, clinical impact." Langenbeck's Archives of Surgery 392(3): PP:371-379.

11. Feldman, A. L., L. Tamarkin, et al. (2000). "Serum endostatin levels are elevated and correlate with serum vascular endothelial growth factor levels in patients with stage IV clear cell renal cancer." Clinical cancer research 6(12): PP:4628-4634.

12. Ferreras, M., U. Felbor, et al. (2000). "Generation and degradation of human endostatin proteins by various proteinases." FEBS letters 486(3): PP: 247-251.

13. Folkman, J. (1995). "Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease." Nat Med 1(1): PP: 27-31.

14. Folkman, J. (2006). "Antiangiogenesis in cancer therapy - endostatin and its mechanisms of action." Experimental Cell Research 312(5): PP:594-607.

15. Gavin, T., J. Drew, et al. (2007). "Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression." Acta Physiologica 191(2): PP:139-146.

16. Gu, J. W., G. Gadonski, et al. (2004). "Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers." BMC physiology 4(1): 2.

17. Gu, J. W., M. Shparago, et al. (2006). "Tissue endostatin correlates inversely with capillary network in rat heart and skeletal muscles." Angiogenesis 9(2): PP:93-99.

18. Hirota, K. and G. L. Semenza (2006). "Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1." Critical reviews in oncology/hematology 59(1): PP: 15-26.

19. Hoeben, A., B. Landuyt, et al. (2004). "Vascular endothelial growth factor and angiogenesis." Pharmacol Rev 56(4): PP: 549-580.

20. Iruela-Arispe, M. L. (2005). "The Cell Biology of Angiogenesis."

21. Jones, L. W., N. D. Eves, et al. (2005). "Effects of exercise training on antitumor efficacy of doxorubicin in MDA-MB-231 breast cancer xenografts." Clin Cancer Res 11(18): PP:6695-6698.

22. Jones, L. W., B. L. Viglianti, et al. (2010). "Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer." J Appl Physiol 108(2): PP: 343-348.

23. Kishiko, O., S. Kiyoshi, et al. (2010). "Resistance exercise training-induced muscle hypertrophy was associated with reduction of inflammatory markers in elderly women." Mediators of Inflammation 2010.

24.Kut, C., F. Mac Gabhann, et al. (2007). "Where is VEGF in the body? A meta-analysis of VEGF distribution in cancer." British journal of cancer 97(7): PP:978-985.

25. Lamagna, C., M. Aurrand-Lions, et al. (2006). "Dual role of macrophages in tumor growth and angiogenesis." Journal of Leukocyte Biology 80(4): PP:705-713.

26. Matheny, W., E. Merritt, et al. (2009). "Serum IGF-I-deficiency does not prevent compensatory skeletal muscle hypertrophy in resistance exercise." Experimental Biology and Medicine 234(2): PP:164-170.

27. McPherson, K., C. M. Steel, et al. (2000). "Breast cancer—epidemiology, risk factors, and genetics." Bmj 321(7261): PP:624-628.

28. Milkiewicz, M., E. Ispanovic, et al. (2006). "Regulators of angiogenesis and strategies for their therapeutic manipulation." International Journal of Biochemistry & Cell Biology 38(3): PP: 333-357.

29. Ohira, T., K. H. Schmitz, et al. (2006). "Effects of weight training on quality of life in recent breast cancer survivors." Cancer 106(9): PP:2076-2083.

30. Papetti, M. and I. M. Herman (2002). "Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis." Am J Physiol Cell Physiol 282(5): PP: C947-970.

31. Paulsen, G., K. Hanssen, et al. (2011). "Strength training elevates HSP27, HSP70 and αB-crystallin levels in musculi vastus lateralis and trapezius." European journal of applied physiology: PP:1-10.

32. Prior, B. M., H. Yang, et al. (2004). "What makes vessels grow with exercise training?" Journal of Applied Physiology 97(3):P: 1119.

33. Seida, A., J. Wada, et al. (2003). "Serum bFGF levels are reduced in Japanese overweight men and restored by a 6-month exercise education." International journal of obesity 27(11): PP:1325-1331.

34. Weinberg, R. A. (2007). The biology of cancer, Garland Science New York.

35. Zhao, J., F. Yan, et al. (2004). "Correlation between serum vascular endothelial growth factor and endostatin levels in patients with breast cancer." Cancer letters 204(1): PP: 87-95.

36. Zhu, Z., W. Jiang, et al. (2008). "Effect of nonmotorized wheel running on mammary carcinogenesis: circulating biomarkers, cellular processes, and molecular mechanisms in rats." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17(8): PP:1920-1929.

37. Zielinski, M. R., M. Muenchow, et al. (2004). "Exercise delays allogeneic tumor growth and reduces intratumoral inflammation and vascularization." J Appl Physiol 96(6): PP:2249-2256.