

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دوره ۳۴ شماره ۶ بهمن و اسفند ۱۳۹۱ صفحات ۸۹-۸۲

## تأثیر شش هفته تمرین استقامتی بر میزان VEGF و اندوستاتین بافت توموری در موش‌های مبتلا به سرطان پستان

مریم نورشاهی: گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران، نویسنده رابط:  
Email: M-nourshahi@sbu.ac.ir

مهدی قاسمی بیرامی: گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران  
ایوب بابایی: گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران  
زهیر حسن: گروه ایمونولوژی، دانشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران  
فاطمه شبخیز: گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت: ۹۱/۳/۱ پذیرش: ۹۰/۱۲/۲۸

### چکیده

**زمینه و اهداف:** بافت توموری برای رشد به آنژیوژنز وابسته است. زمانی که سطوح فاکتورهای آنژیوژنیک بر فاکتورهای آنتی‌آنژیوژنیک غلبه کند، آنژیوژنز اتفاق می‌افتد. بنابراین هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی بر مقادیر VEGF (فاکتور آنژیوژنیک) و اندوستاتین (فاکتور آنتی‌آنژیوژنیک) بافت توموری در موش‌های مبتلا به سرطان پستان بود.

**مواد و روش‌ها:** موش‌های ماده‌ی نژاد بال‌سی ( $n=20$ ، سن ۷-۵ هفته، وزن  $18 \pm 2$  گرم) به مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاه و نوارگردان سازگار شدند. سپس از طریق جراحی زیرجلدی تومور آدنوکارسینومای موشی سرطانی شده و بعد از یک هفته استراحت به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم‌بندی شدند. گروه تمرین شش هفته تمرین استقامتی را به‌طور فزاینده اجرا کرد (پنج جلسه در هفته، ۲۰ دقیقه، ۵۰٪ - ۶۸٪  $VO_{2max}$ ). ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرین، بافت توموری جداسازی شده و سطوح پروتئینی اندوستاتین و VEGF از طریق آزمایش وسترن بلات ارزیابی شد. از آزمون t مستقل جهت مقایسه‌ی تمام داده‌های مربوط به دو گروه استفاده گردید.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که VEGF در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافت ( $P > 0.05$ )، اما افزایش اندوستاتین در گروه تمرین معنادار نبود. میزان افزایش حجم تومور در گروه تجربی بسیار کمتر از گروه کنترل بود ( $P \leq 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** با این وجود پژوهش حاضر نشان داد که احتمالاً تمرین ورزشی نمی‌تواند باعث کاهش رگ‌زایی در بافت توموری شود. تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌تواند ابهامات مربوط به سازوکارهای سلولی - مولکولی دیگر در کاهش حجم تومور را مشخص سازد.

**کلید واژه‌ها:** تمرین استقامتی، اندوستاتین، VEGF، وسترن بلات

### مقدمه

سازمان جهانی بهداشت (WHO)، میزان شیوع سرطان طی ۳۰ سال گذشته، بیش از دو برابر افزایش یافته و انتظار می‌رود بار

بعد از بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان یکی از دلایل عمده‌ی مرگ و میر در جهان محسوب می‌شود. بر اساس آمار

های اندوتلیال متصل شود، می‌تواند باعث تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول‌ها گردد. هم‌چنین VEGF مانع از مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول‌های اندوتلیال می‌شود (۶). از سوی دیگر، اندوستاتین یکی از مهم‌ترین فاکتورهای آنژیوستاتیکی است. این فاکتور توسط اوریلی در سال ۱۹۹۷ کشف شد. اندوستاتین قطعه‌ی پروتئینی جدا شده از کلاژن XVIII می‌باشد که عمدتاً در ناحیه‌ی غشاء پایه مویرگ‌ها تحت تأثیر آنزیم‌های مختلف نظیر MMP و الاستاز ترشح می‌شود. اندوستاتین از طریق ساز و کارهای مختلفی تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال عروقی را بازداری کرده و آپوپتوز آن‌ها را افزایش می‌دهد. این فرایند منجر به مهار رگ‌زایی در تومورهای سرطانی و کاهش تهاجم سلول‌های سرطانی به بافت‌های سالم می‌گردد (۷). تحقیقات بسیار کمی در رابطه با نقش تمرینات ورزشی بر تغییرات سطوح اندوستاتین و VEGF انجام گرفته است. در این راستا، جیان و همکاران (۲۰۰۶) بعد از سه هفته تمرین استقامتی، به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌دار اندوستاتین و VEGF در بافت عضلانی موش‌ها را مشاهده کردند (۸). هم‌چنین نورشاهی و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که هشت هفته تمرین استقامتی بر روی نوارگردان موجب کاهش سطوح اندوستاتین و افزایش VEGF در سرم موش‌های صحرائی گردید (۹). بریکسیوس و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که شش ماه تمرین زیربیشینه تأثیر معنی‌داری بر مقادیر VEGF پلازما در افراد چاق نداشت ولی مقادیر اندوستاتین پلازما کاهش معنی‌داری یافت (۱۰). با این وجود تاکنون تحقیقی در زمینه تأثیر تمرینات استقامتی بر این فاکتورها در بافت توموری مبتلایان به سرطان پستان صورت نگرفته است. لذا هدف تحقیق حاضر این بود که اثر شش هفته تمرین استقامتی بر میزان پروتئین اندوستاتین و VEGF در بافت توموری موش‌های مبتلا به سرطان پستان را بررسی کند. هم‌چنین میزان تأثیر این دوره‌ی تمرینی بر حجم و اندازه تومور مورد بررسی قرار گرفت. انجام چنین پژوهشی احتمالاً بتواند گامی جهت کمک به مبتلایان به سرطان پستان بردارد و زمینه ساز تجویز تمرینات ورزشی مناسب برای آنان گردد.

### مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود که به شیوه‌ی میدانی و آزمایشگاهی انجام شد. جامعه‌ی آماری را موش‌های ماده‌ی نژاد بلب‌سی تشکیل دادند. به این منظور تعداد ۲۰ سر موش بلب‌سی ماده (سن ۵ تا ۷ هفته، وزن  $18 \pm 2$  گرم) از مؤسسه-ی پاستور خریداری و به حیوان‌خانه دانشگاه منتقل شدند. اتاق نگهداری حیوانات در دمای ۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۴۵ درصدی تنظیم شده بود و دوره‌ی ۱۲ ساعته‌ی تاریکی-روشنایی رعایت شد. غذای حیوانات شامل

دیگر تا سال ۲۰۲۰ این میزان دو برابر گردد (۱). در این میان سرطان پستان به عنوان دومین سرطان شایع در زنان شناخته شده است، به طوری که ۳۲٪ سرطان‌های زنان و اولین علت مرگ زنان ۴۵-۴۰ ساله را تشکیل می‌دهد (۲). در کشور ما سالیانه حدود ۷۰۰۰ مورد جدید ابتلا به سرطان پستان در زنان گزارش می‌شود و تقریباً از هر ۱۰ زن ایرانی یک نفر احتمال ابتلا به این بیماری را دارد (۲). لذا محققان در طی سالیان متمادی در پی یافتن بهترین راه‌حل برای درمان این بیماری بوده‌اند. مطالعات انجام گرفته در این زمینه، فعالیت بدنی را به عنوان یک مداخله‌ی بی‌خطر در بهبود کیفیت زندگی افراد مبتلا به سرطان پستان نشان داده‌اند (۳)، ولی جنبه‌ی درمانی آن هنوز مورد بحث است. به همین دلیل شناسایی مسیرهای تأثیرگذاری فعالیت بدنی بر تومورهای سرطانی، می‌تواند گامی مهم در اثبات نقش آن در کنترل و درمان سرطان پستان باشد. یکی از سازگاری‌های فیزیولوژیکی مربوط به تمرینات ورزشی رگ‌زایی است که این فرایند در بافت عضلانی به خوبی اثبات شده است. از سوی دیگر مهم‌ترین عاملی که در رشد و سرایت تومورهای بدخیم سرطانی به سایر بافت‌های بدن نقش دارد، آنژیوژنز یا زایش مویرگ از رگ‌های موجود است. تومورهای سرطانی بدون در اختیار داشتن مویرگ‌های خون‌رسان به بافت، نمی‌توانند به بیش از ۱ تا ۲ میلی‌متر رشد کنند؛ دلیل این امر عدم دسترسی سلول‌های سرطانی به اکسیژن و مواد مغذی لازم است. لذا در این وضعیت با رهاسازی فاکتورهای آنژیوژنیک از سلول‌های سرطانی، فرایند آنژیوژنز اتفاق می‌افتد (۴). تنظیم فرایند آنژیوژنز به وسیله یک سری فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیوستاتیکی که به ترتیب موجب تحریک و بازداری فرایند آنژیوژنز می‌شوند، کنترل می‌شود. به طوری که آنژیوژنز یا مهار آن، تحت تأثیر تعادل بین این فاکتورها قرار دارد. در شرایط نرمال بین فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیوستاتیکی تعادل برقرار است، ولی در شرایط پاتولوژیکی مانند ترمیم زخم و رشد توده‌ی سرطانی، این تعادل در جهت فاکتورهای آنژیوژنیک تغییر مسیر داده و موجب به وجود آمدن مویرگ‌های جدید در بافت می‌شود. در تومورهای سرطانی این امر موجب رشد تومور و سرایت آن به سایر بافت‌های سالم بدن می‌گردد (۵). بنابراین هر عاملی که بتواند در تومورهای سرطانی، تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیوستاتیک را به نفع فاکتورهای مهارکننده آنژیوژنز برهم بزند، موجب مهار رشد و سرایت تومور خواهد شد (۴). امروزه ده‌ها نوع فاکتور آنژیوژنیک و آنژیوستاتیکی شناسایی شده است که از مهم‌ترین آن‌ها VEGF (فاکتور آنژیوژنیک) و اندوستاتین (فاکتور آنژیوستاتیکی)، اشاره کرد (۵). عامل VEGF (فاکتور رشد اندوتلیال عروقی) قوی‌ترین میتوزن مخصوص سلول‌های اندوتلیال است که وقتی به گیرنده‌های خود بر روی سلول-

پروتئین در معرض SDS-page ۱۲.۵٪-۵٪ قرار داده شد و پروتئین‌ها به غشاء نیتروسولولوزی انتقال داده شدند. سپس مقادیر اندوستاتین و VEGF از طریق آنتی‌بادی‌های اختصاصی (primary VEGF mouse anti-mouse monoclonal antibody و Endostatin mouse anti-mouse monoclonal antibody) شناسایی شده و در نهایت با تهیه فیلم عکاسی از باند‌های پروتئینی و تحلیل آن‌ها با نرم افزار image-z چگالی باندها محاسبه گردید. از آنجایی که  $\beta$ -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 می‌شود.

تجزیه و تحلیل داده‌های تحقیق با استفاده از نرم افزار آماری SPSS16 انجام گردید. جهت بررسی طبیعی بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه داده‌های مربوط به دو گروه، از آزمون t مستقل استفاده شد. سطح معنی‌داری نیز  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

**اثر تمرین ورزشی بر مقادیر VEGF بافت توموری:**  
آزمون t مستقل نشان داد که مقادیر VEGF در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافت ( $t=4/275$ ،  $p=0/003$ ) (نمودار ۱). در واقع مقادیر VEGF در گروه تمرین ۲/۵۶ برابر گروه کنترل بود. آزمایش وسترن بلات (شکل ۱) نشان داد که چگالی باند VEGF نسبت به باند بتا‌کتین در گروه تمرین حدود ۰/۴۷۶۷ و در گروه کنترل ۰/۱۸۶۱ می‌باشد.

**اثر تمرین ورزشی بر مقادیر اندوستاتین بافت توموری:**  
نتایج نشان داد که میزان اندوستاتین در بافت توموری گروه تمرین نسبت به گروه کنترل بیش از ۴۲٪ افزایش یافت، ولی این افزایش معنادار نبود ( $t(9)=1/453$ ،  $p=0/184$ ) (نمودار ۲). آزمون وسترن بلات (شکل ۱) نشان داد که چگالی باند اندوستاتین نسبت به باند بتا‌کتین در گروه تمرین حدود ۱/۷۵۶۵ و در گروه کنترل در حدود ۱/۲۳۳۲ می‌باشد.

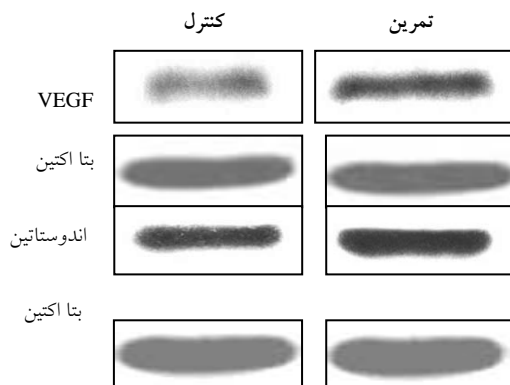
**اثر تمرین ورزشی بر حجم تومور:** تغییرات حجم تومور در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود ( $p=0/069$ )، نتایج آمار توصیفی نشان داد که میانگین نسبت تغییرات حجم تومور (حجم نهایی به حجم اولیه) در گروه کنترل ۲۰/۹۳ و در گروه تمرین ۱۴/۸۹ می‌باشد. این مطلب حاکی از آن است که حجم تومور در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل نزدیک به ۲۹٪ کاهش یافت.

آب و غذای معمول موش بود که به صورت آزاد و در اختیار تا پایان پروتکل در دسترس حیوانات قرار داشت. به منظور سازگاری با شرایط آزمایشگاه، موش‌ها در دو هفته اول، زندگی طبیعی داشتند به طوری که در هفته‌ی اول هیچ نوع فعالیت ورزشی انجام ندادند، ولی در هفته‌ی دوم به منظور آشنایی با دستگاه نوارگردان، ۱۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته و با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه پیاده‌روی انجام دادند. در پایان هفته‌ی دوم، تومور آدنوکارسینوما موشی (شبه‌ترین گونه‌ی توموری به سرطان پستان) از طریق جراحی زیرجلدی به حیوانات پیوند زده شد و آن‌ها بعد از یک هفته استراحت به شکل تصادفی به دو گروه ده‌تایی تمرین و کنترل تقسیم‌بندی شدند. گروه تمرین پروتکل دویدن روی نوارگردان با استفاده از روش کیولو و همکاران (۱۹۹۹) را به مدت شش هفته انجام دادند. به طور کلی تمرین استقامتی ۵ جلسه در هفته و هر جلسه ۲۰ دقیقه به طول انجامید. به این صورت که در دو هفته اول، دوم و سوم به ترتیب با ۱۵، ۱۸ و ۲۰ متر بر دقیقه انجام شد، که معادل ۵۰، ۶۱ و ۶۸ درصد  $VO_{2MAX}$  می‌باشد. گروه کنترل هیچ‌گونه فعالیت ورزشی انجام ندادند (۱۱).

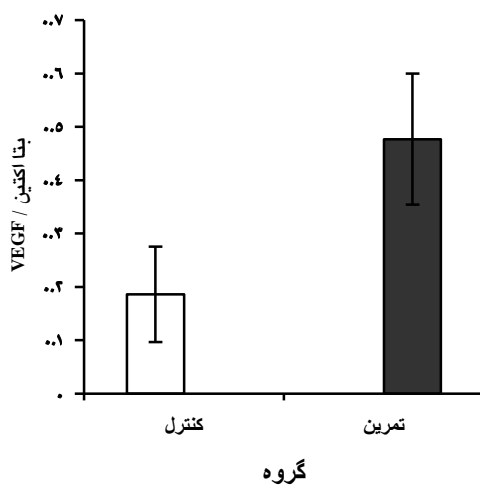
ساعت اجرای تمرین در تمام روزها ثابت بود به طوری روزهای شنبه، یکشنبه، سه شنبه، چهارشنبه و پنجشنبه از ساعت ۸ تا ۱۱ صبح انجام گردید. بعد از اتمام پروتکل تمرینی، به منظور از بین بردن تاثیر کوتاه مدت ورزشی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها کشته شده و بافت توموری از بدن آن‌ها خارج گردید. نمونه‌های بافتی به منظور تجزیه و تحلیل فاکتورهای مورد مطالعه، در نیتروژن مایع منجمد و در دمای  $-80^{\circ}C$  درجه سانتی‌گراد فریز شدند. در نهایت از آزمایش وسترن بلات جهت سنجش مقادیر اندوستاتین و VEGF بافت توموری استفاده گردید.

به دنبال پیوند و پیدایش تومور، تا پایان هفته‌ی ششم (روزکشتار)، هر دو روز یکبار طول و عرض تومور توسط کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول محاسبه‌ی حجم تومور میزان آن بر اساس میلی متر مکعب تعیین گردید.

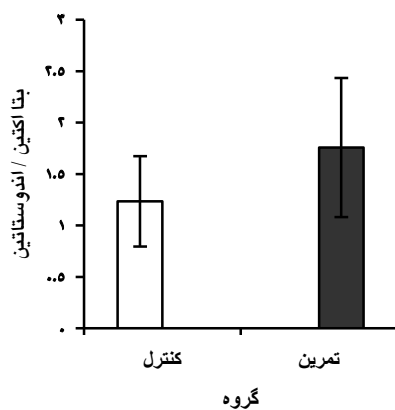
ابتدا بافت توموری در بافر لیز کننده (Tris-HCL ۵۰۰  $\mu$ L و Sodium gr ۰.۰۲۵، NaCl gr ۰.۰۸، EDTA 0.003gr، PH=8 و Deoxycholate، SDS 0.01 gr، NP40 (0.1%  $\mu$ l ۱۰، Protease inhibitor cocktail) به مدت ۶۰ ثانیه در هموژنایزر rpm ۴۰۰۰ هموژن شد. بافت هموژن شده سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای  $+4^{\circ}C$  درجه سانتی‌گراد و در دور rpm ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. پروتئین‌ها در مایع شفاف (Supernatant) محلول هستند که بدین ترتیب جدا شده و در فریزر  $-80^{\circ}C$  درجه تا زمان لازم نگهداری شدند. آزمایش وسترن بلات بر اساس پروتکل مشخص انجام گرفت. نمونه‌های پروتئینی تهیه شده، با بافر نمونه ترکیب شده و در دمای  $100^{\circ}C$  درجه سانتی-گراد به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه جوشانده شدند. در ادامه لایزت



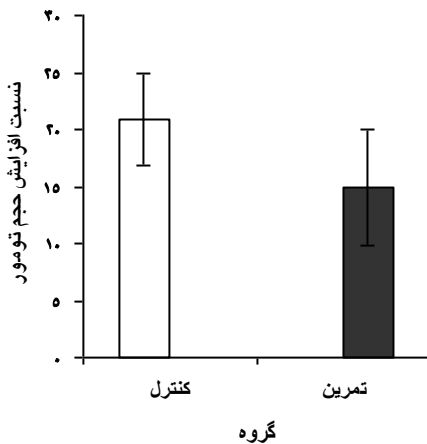
شکل ۱: آزمایش وسترن بلات پروتئین VEGF و اندوستاتین



\* اختلاف معنی دار در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل نمودار ۱: مقادیر VEGF در گروه تمرین و گروه کنترل



نمودار ۲: مقادیر اندوستاتین در گروه تمرین و گروه کنترل



نمودار ۳: نسبت افزایش حجم تومور در دو گروه تمرین و کنترل

## بحث

مطالعات اخیر رابطه‌ی معکوس تمرینات ورزشی را با حجم تومور و میزان مرگ و میر در سرطان پستان نشان داده‌اند (۱۲). با این وجود ساز و کارهای مولکولی این تأثیر هنوز ناشناخته است. در این راستا در تحقیق حاضر به بررسی تأثیر تمرین ورزشی بر فاکتورهای مؤثر بر رگ‌زایی یا مهار رگ‌زایی در بافت توموری پرداخته شد. این فاکتورها می‌توانند نقش عمده‌ای در رشد یا پسرفت تومور داشته باشند. تحقیق حاضر نشان داد که شش هفته تمرین استقامتی به صورت دویدن بر روی نوارگردان منجر به افزایش معنادار VEGF بافت توموری در موش‌های مبتلا به سرطان پستان گردید. این یافته مخالف با نتایج جونز و همکاران (۲۰۰۹) و ژو و همکاران (۲۰۰۸) بود. جونز و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیق خود از پیوند سلول‌های آدنوکارسینومای انسانی در موش‌ها استفاده کرده بودند (۱۳). هم‌چنین تومورسینه در تحقیق ژو و همکاران (۲۰۰۸) از طریق تزریق methyl-1-nitrosourea ایجاد شده بود (۱۴). در حالی که در تحقیق حاضر نوع تومور، آدنوکارسینومای موشی بود که از طریق پیوند زیر جلدی ایجاد شد. از سوی دیگر در تحقیق آن‌ها از پروتکل ورزشی دویدن اختیاری روی چرخ گردان استفاده شده بود. مشخصه‌ی تمرین روی چرخ گردان این است که در آن، تمرینات ورزشی به صورت تناوبی در مدت‌های نسبتاً کم و سرعت بالا انجام می‌گیرد. در تحقیق جونز و همکاران (۲۰۰۹) این روند در کل چرخه‌ی تاریکی تداوم داشت. هم‌چنین در تحقیق جونز، موش‌ها به طور متوسط ۴-۶ کیلومتر و در تحقیق ژو و همکاران، موش‌ها به طور متوسط ۷/۸ مایل در روز می‌دویدند، در حالی که در تحقیق حاضر، نوع تمرین ورزشی به صورت دویدن اجباری بر روی نوارگردان بود و در طول دوره‌ی تمرین، موش‌ها به‌طور متوسط ۶۰۰ متر در هر جلسه می‌دویدند. میکوویچ و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که شدت و مدت فعالیت ورزشی بر بیان

VEGF مؤثر است (۱۵). به نظر می‌رسد شدت تمرین در تحقیق حاضر به دلیل اجباری بودن، بیش از شدت تمرین در تحقیق جونز و همکاران و ژو و همکاران بود و به همین دلیل شاید تحقیق آن‌ها نتوانسته ساز و کارهای افزایش VEGF در بافت توموری را تحریک کند. بنابراین شاید دلیل اختلاف نتیجه بین آن دو تحقیق با تحقیق حاضر مربوط به نوع تومور، نوع موش‌ها و نیز نوع، شدت و حجم تمرین ورزشی باشد. ساز و کار تأثیرگذاری تمرینات ورزشی بر تغییرات VEGF هنوز مبهم و نامشخص است. با این وجود مهم‌ترین دلیل افزایش VEGF در بافت‌های بدن به ویژه در بافت توموری، هایپوکسی ذکر شده است (۱۶). هایپوکسی در بافت توموری به دلایل متعددی روی می‌دهد که از جمله‌ی مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از: وجود رگ‌های ناکارآمد (سست و نشت پذیر و رگ‌هایی با ساختار غیر طبیعی)، دور شدن تدریجی سلول‌های در حال تکثیر از مویرگ‌های موجود، شانت در رگ‌ها به دلیل ساختار غیر طبیعی عروق توموری، انسدادهای مکرر ناشی از ساختار معیوب عروق توموری، فشار بالای بین سلولی به دلیل فقدان رگ‌های لنفوی (۱۷). این عوامل باعث می‌شوند که هایپوکسی موضعی در بافت توموری به وجود آید و به همین دلیل دسترسی سلول‌ها به اکسیژن و مواد مغذی کم شده و آن‌ها بر سر این مواد با هم‌دیگر رقابت می‌کنند. از طرف دیگر روشن است که در هنگام فعالیت ورزشی بخش عمده‌ای از جریان خون به سمت عضلات فعال هدایت می‌شود و جریان خون اکثر بافت‌های غیر فعال بدن مانند معده، روده‌ها و کلیه کاهش می‌یابد. بنابراین این احتمال وجود دارد که جریان خون بافت توموری در هنگام فعالیت ورزشی کاهش یابد که این امر تأمین اکسیژن و مواد مغذی بافت توموری را با دشواری بیشتری مواجه می‌کند. با در نظر گرفتن رگ‌های ناکارآمد بافت توموری، در چنین شرایطی هایپوکسی موضعی تشدید خواهد شد. بنابراین امکان دارد یکی از دلایل

کاهش حجم تومور در موش‌های مبتلا به سرطان پستان گردید، ولی این کاهش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود. ژو و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که نزدیک به ۵۰٪ کاهش در وزن تومور در گروه تمرین مربوط به تأثیر تمرین ورزشی بر تکثیر سلولی، فرایند آپوپتوز و عروق خونی است (۱۴). آن‌ها نشان دادند که تمرین ورزشی منجر به کاهش پروتئین BCL-2 و پروتئین بازدارنده‌ی متصل به X و افزایش پروتئین Bax در بافت تومور سینه گردید. همچنین زیلیسکی و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که فرایند نکروز متعاقب تمرینات ورزشی در بافت توموری افزایش می‌یابد (۲۳). بنابراین کاهش در حجم تومور، ممکن است به دلیل افزایش آپوپتوز و نکروز در بافت توموری باشد. برخی از محققان در اولین بررسی‌های خود در زمینه‌ی ارتباط تمرینات ورزشی و تومورهای سرطانی، کاهش در حجم تومور را به رهاسازی فاکتورهای بازدارنده‌ی رشد تومور از عضلات درگیر در فعالیت نسبت دادند، اما ماهیت و ساز و کار عملکرد این فاکتورها را مشخص نکردند (۲۴). همچنین زیلیسکی و همکاران (۲۰۰۴) با اندازه‌گیری چگالی عروقی تومور متوجه شدند که گروه تمرین ۵۰-۲۵ درصد چگالی عروقی کمتری نسبت به گروه کنترل دارد (۲۳). با توجه به اندازه‌گیری‌های به عمل آمده در تحقیق حاضر و افزایش اندوستاتین شاید در نگاه اول به نظر برسد که یکی از ساز و کارهای کاهش حجم تومور در اثر تمرین ورزشی به دلیل افزایش پروتئین‌های آنژیوستاتیک و در نتیجه کاهش آنژیوژنز در بافت توموری باشد، ولی افزایش چند برابری VEGF به عنوان یک فاکتور آنژیوژنیک در بافت توموری، نتیجه‌گیری درباره‌ی این مطلب را دشوار می‌کند. البته تحقیقات نشان داده‌اند که اندوستاتین از طریق اتصال با گیرنده‌های VEGF-1,2,3 مانع از تحریک آن‌ها به وسیله‌ی VEGF می‌گردد (۲۰). همچنین اندوستاتین از طریق ساز و کارهای مختلف مهاجرت سلول‌های اندوتلیال را کاهش داده و از تشکیل عروق جدید می‌کاهد (۲۵). همانطور که قبلاً اشاره شد چندین تحقیق کاهش حجم تومورهای سرطانی را متعاقب تزریق اندوستاتین و سایر فاکتورهای آنژیوستاتیک در موش‌ها گزارش کرده‌اند. با این وجود به دلیل دخیل بودن عوامل متعدد در فرایند آنژیوژنز تومور، در تحقیق حاضر نتیجه‌گیری در مورد افزایش یا کاهش آنژیوژنز و تأثیر متعاقب آن بر حجم تومور دشوار به نظر می‌رسد و انجام تحقیقات بیشتری در این زمینه لازم است. پدرو و همکاران (۲۰۰۹) و زیلیسکی و همکاران (۲۰۰۴) کاهش حجم تومور در اثر تمرین ورزشی را به کاهش تجمع نوتروفیل‌ها و نفوذ ماکروفاژها در بافت توموری نسبت دادند. ماکروفاژها چندین نقش عمده در آنژیوژنز تومور ایفا می‌کنند. تحقیقات مختلفی ارتباط بین نفوذ ماکروفاژها با رشد تومور در انواع مختلف تومورهای سرطانی را مورد بررسی قرار داده‌اند (۲۶). در واقع در محیط تومور، ماکروفاژها فاکتورهای

افزایش VEGF بافت توموری در تحقیق حاضر، افزایش هایپوکسی موضعی ناشی از جلسات تمرین ورزشی باشد. چندین پژوهش نشان دادند که متعاقب فعالیت ورزشی، VEGF از عضلات وارد گردش خون می‌شود به همین دلیل میزان VEGF خون افزایش می‌یابد (۸). از طرف دیگر سی-کات و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که میزان VEGF فضای بین‌سلولی بافت توموری تقریباً مشابه VEGF پلاسما است (۱۸). بنابراین ممکن است در تحقیق حاضر یکی از دلایل افزایش VEGF، ورود آن از بافت‌های اطراف تومور و گردش خون به بافت توموری باشد، زیرا VEGF از بافت‌ها و سلول‌های مختلفی رهاسازی می‌شود (۱۹).

همچنین تحقیق حاضر نشان داد که شش هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش مقادیر اندوستاتین در بافت توموری موش‌های مبتلا به سرطان پستان گردید، اگرچه این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود. تاکنون هیچ تحقیقی در زمینه‌ی ارتباط فعالیت ورزشی با اندوستاتین در تومورهای سرطانی گزارش نشده است و تنها چند مورد تحقیق، تأثیر فعالیت ورزشی بر میزان اندوستاتین پلاسما یا بافت عضلانی در آزمودنی‌های سالم را مورد بررسی قرار داده‌اند. به همین دلیل ساز و کارهای تأثیرگذاری تمرین ورزشی بر میزان اندوستاتین در بافت توموری نامشخص بوده و بحث‌انگیز باقی می‌ماند. بررسی‌ها نشان می‌دهند که یکی از دلایل افزایش اندوستاتین در بافت توموری می‌تواند این مطلب باشد که فعالیت‌های پروتئولیتیکی که منجر به رشد بافت توموری می‌شوند ممکن است بازدارنده‌های آنژیوژنیک را از پروتئین‌های اولیه به تحرک وادار کند که خود این پروتئین‌ها در درجه‌ی اول خاصیت ضد آنژیوژنیک ندارند، ولی زمانی که تحت تأثیر این تغییرات قرار گیرند، پروتئین‌هایی را آزاد می‌کنند که تأثیر ضد آنژیوژنیک دارند (۲۰). مطالعات زیادی نشان می‌دهند که رهاسازی پروتئولیتیکی اندوستاتین از انتهای کربوکسی کلاژن XVIII توسط پروتئازهای میانجی‌گری می‌شود که از جمله‌ی آن‌ها عبارتند از: پروتئینازهای سیستین، ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs) و اسپارنیک پروتئینازها. سپین و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که پروتئازهایی از قبیل MMP-3,7,9,13 و نیز الاستاز، جداشدن اندوستاتین از کلاژن XVIII را میانجی‌گری می‌کنند (۲۱). تحقیقات نشان می‌دهند که فعالیت بسیاری از این پروتئینازها متعاقب فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد (۲۲). بنابراین ممکن است یکی از دلایل افزایش اندوستاتین در تحقیق حاضر افزایش فعالیت‌های پروتئولیتیکی در بافت توموری باشد. با این وجود باید توجه داشت که تاکنون تحقیقاتی که تأثیر فعالیت ورزشی را بر این فاکتورها مطالعه کرده‌اند اکثراً در بافت‌های سالم بوده است و لذا در زمینه‌ی تومورهای سرطانی باید تحقیقات کافی صورت پذیرد. همچنین تحقیق حاضر نشان داد که شش هفته تمرین استقامتی به صورت دوییدن بر روی تردمیل، منجر به

تحقیقات در این زمینه نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی تأثیر معنی‌داری بر مایع تجمعی در تومور ندارند (۲۳). همچنین یکی از ابهاماتی که ممکن است در زمینه تأثیر تمرین ورزشی بر حجم تومور وجود داشته باشد تغییرات هورمونی بدن به دلیل تغییر در چرخه‌ی ماهانه‌ی آزمودنی‌هاست. تامسون و همکاران نشان دادند که تمرینات زیربیشینه برخلاف تمرینات شدید تغییری در چرخه‌ی ماهانه وجود نمی‌آورد (۳۰). از آنجایی که شدت تمرین در تحقیق حاضر کمتر از حدی بود که تغییری در این متغیر بوجود آورد بنابراین، این عامل نمی‌تواند از عوامل موثر بر حجم تومور سینه در نظر گرفته شود.

### نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر نشان داده شد که شش هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌دار VEGF در بافت توموری موش‌های مبتلا به سرطان پستان گردید. همچنین اندوستاتین به عنوان یکی از مهم‌ترین بازدارنده‌های درونی آنژیوژنز بیش از ۴۲٪ افزایش یافت. با این وجود، افزایش VEGF بسیار بیشتر از اندوستاتین مشاهده شد. با این وجود به دلیل دخیل بودن عوامل متعدد در آنژیوژنز بافت توموری و تغییرات حجم تومور، این نتیجه‌گیری قطعی نیست و انجام تحقیقات بیشتری در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. به این ترتیب به نظر می‌رسد احتمالاً ورزش منظم استقامتی و با شدت متوسط می‌تواند با کاهش دادن حجم تومور، به عنوان مکمل در کنار سایر روش‌های درمانی، نقش مؤثری در جهت بهبودی و درمان تومورهای سرطانی داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات همکاران محترم در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران و دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

رشدی و پروآنژیوژنیک رهاسازی می‌کنند (به ویژه VEGF) که این فاکتورها می‌توانند باعث تحریک و افزایش آنژیوژنز گردند. با این وجود تغییر در مقادیر VEGF بافت توموری را نمی‌توان صرفاً به ماکروفاژها نسبت داد، چرا که تولید VEGF تنها وابسته به ماکروفاژها نیست بلکه خود سلول‌های سرطانی و فاکتورهای التهابی منبعی برای تولید VEGF در بافت توموری محسوب می‌شوند. بنابراین افزایش تولید VEGF بافت توموری در تحقیق حاضر نمی‌تواند با کاهش تولید ماکروفاژها در تضاد باشد. ساز و کاری که به طور دقیق مشخص کند چگونه تمرینات ورزشی زیربیشینه منجر به کاهش تجمع ماکروفاژها در بافت توموری می‌شوند هنوز مشخص نیست هرچند روشن است که تمرینات زیر بیشینه تأثیر عمده‌ای بر کاهش التهاب موضعی در بافت توموری دارند (۲۶). به عنوان مثال افزایش در فاکتورهای بازدارنده‌ی گیرنده‌ی IL-1 در تمرینات ورزشی مزمن مشاهده شده است. همچنین افزایش در تولید IL-6 و IL-10 و گیرنده‌ی TNF- $\alpha$  در اثر تمرینات ورزشی گزارش شده است (۲۷) که از عوامل تأثیرگذار در کاهش التهاب موضعی ناشی از تمرینات می‌باشند. در این زمینه تحقیقات بیشتری لازم است تا ساز و کارهای تأثیرگذاری تمرینات ورزشی بر نفوذ ماکروفاژها در بافت توموری بررسی شود.

همچنین در تحقیقی نشان داده شد که تمرینات زیر بیشینه‌ی استقامتی بعد از پیوند تومور باعث کاهش حجم تومور آدنوکارسینوما در موش‌ها گردید که با نتایج تحقیق حاضر همسو می‌باشد (۲۸). در آن تحقیق، کاهش تظاهر HSP70 دلیل عمده‌ی کاهش حجم تومور عنوان گردید. عامل HSP70 در عملکرد ایمنی تومورهای سرطانی نیز نقش مهمی دارد به این ترتیب که کسب آنتی‌ژن‌های سلولی و عرضه‌ی آن‌ها به سلول‌های مؤثر ایمنی را تسهیل می‌کند. مطالعات نشان می‌دهند که کاهش HSP70 باعث مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود (۲۹). بنابراین در تحقیق حاضر نیز این احتمال وجود دارد که کاهش در HSP70 یکی از دلایل کاهش حجم تومور باشد. ممکن است به نظر برسد که تمرینات ورزشی از طریق کاهش مایع تجمعی در تومور باعث کاهش حجم تومور گردند، ولی

## References

1. Wiseman M. The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *Proc Nutr Soc* 2008; **67**(3): 253-256.
2. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. *Breast J* 2007; **13**(4): 383-391.
3. Cheema BSB, Gaul CA. Full-body exercise training improves fitness and quality of life in survivors of breast cancer. *Journal of Strength and Conditioning Research* 2006; **20**(1): 14-21.
4. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; **407**(6801): 249-257.
5. Papetti M, Herman IM. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; **282**(5): 947-970.
6. Christopoulos A, Ahn SM, Klein JD, Kim S. Biology of vascular endothelial growth factor and its receptors in head and neck cancer: Beyond angiogenesis. *Head Neck* 2010; **16**: 125-134.
7. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997; **88**(2): 277-285.

8. Gu JW, Shparago M, Tan W, Bailey AP. Tissue endostatin correlates inversely with capillary network in rat heart and skeletal muscles. *Angiogenesis* 2006; **9**(2): 93-99.
9. Nourshahi M, Hedayati M, Ranjbar K. The correlation of resting leptin on serum angiogenic indices at rest and after submaximal exercise. *Regulatory Peptides* 2011; **8**: 65-69.
10. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M, et al. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50-60 years. *Br J Sports Med* 2008; **42**(2): 126-129.
11. Lu Q, Ceddia MA, Price EA, Ye SM, Woods JA. Chronic exercise increases macrophage-mediated tumor cytotoxicity in young and old mice. *Am J Physiol* 1999; **276**(2): 482-489.
12. Irwin ML, Smith AW, McTiernan A, Ballard-Barbash R, Cronin K, Gilliland FD, et al. Influence of pre- and postdiagnosis physical activity on mortality in breast cancer survivors: The health, eating, activity, and lifestyle study. *Journal of Clinical Oncology* 2008; **26**(24): 3958-3964.
13. 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* 2010; **108**(2): 343-348.
14. Zhu Z, Jiang W, Sells JL, Neil ES, McGinley JN, Thompson HJ. Effect of nonmotorized wheel running on mammary carcinogenesis: circulating biomarkers, cellular processes, and molecular mechanisms in rats. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; **17**(8): 1920-1929.
15. Milkiewicz M, Ispanovic E, Doyle JL, Haas TL. Regulators of angiogenesis and strategies for their therapeutic manipulation. *Int J Biochem Cell B* 2006; **38**(3): 333-357.
16. Bausero P, Ben-Mahdi MH, Mazucatelli JP, Bloy C, Perrot-Appianat M. Vascular endothelial growth factor is modulated in vascular muscle cells by estradiol, tamoxifen, and hypoxia. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2000; **279**(5): 2033.
17. Hirota K, Semenza GL. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006; **59**(1): 15-26.
18. Kut C, Mac Gabhann F, Popel A. Where is VEGF in the body? A meta-analysis of VEGF distribution in cancer. *British journal of cancer* 2007; **97**(7): 978-985.
19. Jones LW, Eves ND, Haykowsky M, Freedland SJ, Mackey JR. Exercise intolerance in cancer and the role of exercise therapy to reverse dysfunction. *Lancet Oncol* 2009; **10**(6): 598-605.
20. Abdollahi A, Hahnfeldt P, Maercker C, Grone HJ, Debus J, Ansoerge W, et al. Endostatin's antiangiogenic signaling network. *Mol Cell* 2004; **13**(5): 649-663.
21. Seppinen L. The roles of collagen XVIII and its endostatin domain in wound healing, hair follicle cycling and bone development. *Medica* 500; **6**: 1038.
22. Koskinen SOA, Heinemeier KM, Olesen JL, Langberg H, Kjaer M. Physical exercise can influence local levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in tendon-related connective tissue. *Journal of applied physiology* 2004; **96**(3): 861.
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* 2004; **96**(6): 2249-2256.
24. Hoffman SA, Paschkis KE, DeBias DA, Cantarow A, Williams TL. The influence of exercise on the growth of transplanted rat tumors. *Cancer Research* 1962; **22**: 597-599.
25. Folkman J. Antiangiogenesis in cancer therapy - endostatin and its mechanisms of action. *Exp Cell Res* 2006; **312**(5): 594-607.
26. 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): 274-279.
27. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev* 2004; **56**(4): 549-580.
28. Agha AH, Toufighi A, Mohammad HZ, Mahdavi M, Shahrokhi S. The effect of continuous aerobic exercise on the rate of hsp70 in mice with breast cancer tumor. *Olympic* 2008; **8**: 45-51.
29. Daugaard M, Jäättelä M, Rohde M. Extra View Hsp70-2 is Required for Tumor Cell Growth and Survival. *Cell Cycle* 2005; **4**(7): 877-880.
30. Thompson HJ, Ronan AM, Ritacco KA, Tagliaferro AR, Meeker LD. Effect of exercise on the induction of mammary carcinogenesis. *Cancer Res* 1988; **48**(10): 2720-2723.