

Original Article

The effect of 10 weeks endurance training on protein levels of NF-kB and gene expression of Atrogin-1 and MuRF-1 in cardiac myocytes of female mice with breast cancer

Naeema Yazdanshenas¹, Maghsoud Piri^{1*}, Maryam Delfan²

¹Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

*Corresponding author; E-mail: M.Peeri@iauctb.ac.ir

Received: 8 Oct 2019 Accepted: 18 Nov 2019 First Published online: 17 April 2021

Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(1):134-141

Abstract

Background: Cardiac atrophy is the most important complications resulted by cancer. Given the role of exercise in protecting against cancer complications, the aim of the present study was to determine the effect of 10 weeks of endurance training on protein levels of NF-kB and gene expression of Atrogin-1 and MuRF-1 in cardiac myocyte of female Balb/C mic with breast cancer.

Methods: The present study was an experimental study. Twelve female BALB/c mice after inducing breast cancer were randomly divided into two groups (n=6) including endurance training group (E) and the control group (C). E group performed 65 min at a constant running speed corresponding to 60% vVo₂max at 15% inclination, ten weeks (five days a week). The Left ventricular of animals was extracted 24h following the last training session. Protein levels of NF-kB and gene expression of Atrogin-1 and MuRF-1 were determined by, respectively, western blot and qReal-time PCR. Statistic data values also were measured by independent samples t-test at the 0.05 levels of significance.

Results: The results of the present study showed a significant decreased in cardiac protein levels of NF-kB (p<0.001) and cardiac gene expression of Atrogin-1 (p<0.001) and MuRF-1 (p=0.003) in comparison with control group. Endurance training group had significantly greater heart weights compared to control group (p<0.001).

Conclusion: it seems that 10 weeks of endurance training possibly affect mechanisms involved in cancer-induced cardiac atrophy such as NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 axis results in decreasing cardiac atrophy in mice with breast cancer.

Keywords: Endurance Training, NF-kB, Atrogin-1, MuRF-1, Breast Cancer

How to cite this article: Yazdanshenas N, Piri M, Delfan M. [The effect of 10 weeks endurance training on protein levels of NF-kB and gene expression of Atrogin-1 and MuRF-1 in cardiac myocytes of female mice with breast cancer]. Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(1):134-141. Persian.

مقاله پژوهشی

تأثیر ده هفته تمرین استقامتی بر سطح پروتئین NF-kB و بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در مایوسیت‌های قلبی موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان

نعیمه یزدان شناس^۱، مقصود پیری^۲، مریم دلفان^۳

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران
 *نویسنده مسئول: ایمیل: M.Peeri@iauctb.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۸/۷/۱۶ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۲۷ انتشار برخط: ۱۴۰۰/۱/۲۸
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۱):۱۳۴-۱۴۱

چکیده

زمینه: آتروفی قلبی از مهم‌ترین عوارض سرطان است. با توجه به نقش ورزش در بهبود عوارض ناشی از سرطان، هدف مطالعه حاضر تعیین تأثیر ده هفته تمرین استقامتی بر سطح پروتئین NF-kB و بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در عضله قلبی موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان بود.
 روش کار: پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. ۱۲ سر موش ماده آزمایشگاهی نژاد بلب سی پس از القا سرطان پستان، به دو گروه کنترل و تمرین استقامتی تقسیم شدند. گروه تمرین به مدت ۱۰ هفته (پنج روز در هفته) روزانه ۶۵ دقیقه با سرعت ۶۰ درصد Vo2max و شیب ۱۵ درجه بر روی نوار گردان دویدند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، بافت بطن چپ جداسازی شد. سطح پروتئین NF-kB به روش وسترن بلات و بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 به روش qReal time-PCR در بافت قلب سنجیده شد. داده‌ها با آزمون t مستقل تجزیه و تحلیل شدند و معناداری نیز $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.
 یافته‌ها: نتایج پژوهش حاضر کاهش معنادار سطوح پروتئین NF-kB ($p < 0.001$) و بیان ژن‌های Atrogin-1 ($p < 0.001$) و MuRF-1 ($p = 0.003$) در عضله قلبی گروه تمرین نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p < 0.001$). همچنین میانگین وزن عضله قلبی در گروه تمرین استقامتی به شکل معناداری بیشتر از گروه کنترل بود ($p < 0.001$).
 نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ۱۰ هفته تمرین استقامتی احتمالاً با تأثیر بر مکانیسم‌های آتروفی قلبی ناشی از سرطان مانند محور التهابی NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 می‌تواند باعث کاهش روند آتروفی عضله قلبی در موش‌های ماده مبتلا به سرطان شود.

کلید واژه‌ها: تمرین استقامتی، NF-kB، Atrogin-1، MuRF-1، سرطان پستان

نحوه استناد به این مقاله: یزدان شناس ن، پیری م، دلفان م. تأثیر ده هفته تمرین استقامتی بر سطح پروتئین NF-kB و بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در مایوسیت‌های قلبی موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۱):۱۳۴-۱۴۱

حق تالیف برای مولفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کربیتو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

آتروفی قلبی یکی از مهم‌ترین عوارضی است که در اثر سرطان و روش‌های درمانی آن در بیماران مبتلا به سرطان بوجود می‌آید (۱) به شکلی که بیماری‌های قلبی عروقی نه تنها مهم‌ترین عامل مرگ و میر در زنان مبتلا به سرطان پستان غیر متاستازی، بلکه از مهم‌ترین مسائل موجود در این حیطه هستند (۲). از سوی دیگر، تازه‌ترین برآوردها در سال ۲۰۱۸ نشان می‌دهد سرطان پستان نه تنها شایع‌ترین سرطان در میان زنان در سراسر دنیا، بلکه اصلی‌ترین عامل مرگ و میر زنان در دنیا است (۳).

سرطان با ترشح عوامل سرکوب کننده و مخرب باعث اختلال در ساختار و عملکرد بسیاری از ارگان‌ها و بافت‌های حیاتی بدن از جمله عضلات اسکلتی، بافت کبد، چربی و دیگر ارگان‌های مهم به‌ویژه عضله قلبی (۱، ۴) چه در انسان و چه در حیوانات است (۵-۷)، که موجب آتروفی و اختلال در عملکرد آنها می‌گردد (۸ و ۹). با توجه به نقش و اهمیت بالای عضله قلبی در بیماران مبتلا به سرطان در طول دوران درمان (۱۰ و ۱۱)، تعیین نقش زیربنایی و ساختاری سازوکارهای درگیر در تغییرات ناشی از سرطان روی سلول‌های عضله قلبی اهمیت بالایی در مطالعات بالینی و پیش‌بالینی داشته و ضروری است. هر چند مسیرهای متعددی از جمله SMAD، AKT و MAPKA در آتروفی قلبی ناشی از سرطان دخیل هستند (۱۲)، اما مسیر پیام‌رسانی NF-kB بخصوص محور NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 از آن سازوکارهای کلیدی است که با تاثیر بر سلول‌های عضله قلبی، باعث کاهش بازدهی عضله قلبی و ایجاد اختلال در عملکرد آن در بیماران مبتلا به سرطان شده و بر دیگر مسیرهای یادشده تاثیر چشمگیری دارد (۵، ۱۲). طوری که سرطان با فراتنظیمی گیرنده‌های NF-kB در بافت قلبی باعث راه اندازی مسیر Atrogin-1/MuRF-1 و مسیرهای پایین دست آن می‌شود که منجر به افزایش التهاب در بافت قلبی می‌گردد. به دنبال این فرآیند، نرخ سنتز پروتئین از طریق مسیر AKT در عضله قلبی کاهش و نرخ پروتئولیز از طریق مسیر مطالعه حاضر افزایش می‌یابد که در نهایت منجر به آتروفی عضله قلبی در افراد مبتلا به سرطان می‌شود (۵، ۱۲). بر این اساس، پژوهشگران در مطالعه دیگری اهمیت نقش NF-kB در آتروفی قلبی ناشی از سرطان را با مهار NF-kB و متعاقب آن مهار مسیرهای Atrogin-1 و MuRF-1 در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان مشخص کردند. نتایج این پژوهش نشان داد مهار NF-kB با کاهش آتروفی عضله قلبی ناشی از سرطان همراه است (۱۳). از سوی دیگر توصیه شده است که یک برنامه ورزشی منظم با مهار توسعه آتروفی قلبی در بیماران سرطانی باعث کاهش خستگی و کاهش عدم تحمل فعالیت ورزشی ناشی از اختلال قلبی عروقی آنان می‌شود (۱۴). هرچند مطالعات متعددی نقش سودمند فعالیت ورزشی استقامتی بر سلامت افراد (۱۵ و ۱۶) و

همچنین نقش پیشگیری و درمان کننده ورزش را در جلوگیری از بروز سرطان پستان و یا مهار رشد سرطان پستان نشان داده‌اند (۱۷ و ۱۸)، اما با وجود اهمیت بالای عملکرد قلبی در بیماران مبتلا به سرطان (۱۰ و ۱۱) و همچنین ضرورت افزایش بینش‌ساز و کارنگری در مبحث آتروفی و اختلال عملکرد قلبی ناشی از سرطان (۱، ۵)، مطالعات در این حوزه بسیار اندک بوده و تاثیرپذیری بسیاری از این مکانیسم‌ها از جمله مسیرهای التهابی مذکور در سلول‌های عضله قلبی بیماران مبتلا به سرطان پستان از مداخله‌های ورزشی استقامتی مبهم هستند (۱۹). طوری که تعیین تاثیر مداخله‌های ورزشی بر این سازوکارها و تاثیر آنها بر عملکرد عضله قلبی، یک مساله مهم بالینی و پیش‌بالینی در مطالعات حوزه سرطان و آنکولوژی ورزشی است (۱۹). سوالات متعددی مانند این‌که ورزش استقامتی چگونه و از طریق چه مکانیسم‌هایی مانع از توسعه آتروفی قلبی در بیماران مبتلا به سرطان پستان می‌شود، بی‌پاسخ باقی مانده است. بر این اساس در پژوهش حاضر پژوهشگران با مطالعه محور NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 در مایوسیت‌های قلبی موش‌های مبتلا به سرطان پستان به دنبال پاسخ به این سوال بودند که آیا تمرین استقامتی بر این محور تاثیر می‌گذارد؟ از این رو، هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر تمرین استقامتی بر محور NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان پستان بود.

روش کار

پژوهش حاضر از نوع تجربی و آزمایشگاهی بود که روی ۱۲ سر موش‌های آزمایشگاهی ماده نژاد بلب‌سی (۴-۵ هفته، وزن ۱۳ تا ۱۵ گرم) تهیه شده از موسسه تحقیقاتی پاستور تهران انجام شد. نگهداری حیوانات در طول دوره پژوهش بر اساس شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲) انجام شد و همه موش‌ها به شکل آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. در کلیه مراحل پژوهش، پژوهشگران اصول اخلاقی کار با حیوانات مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران را رعایت کردند.

القا سرطان پستان

جهت القا سرطان پستان یک فلاسک T25 رده سلولی MC4-L2 از مرکز ذخایر ژنتیک تهیه شد. سپس سلول‌ها در محیط کشت DMEM/F-12 با ۱۵ میلی‌مول بافر HEPES استرپتومایسی ۱۰۰ µg/ml، پنی‌سیلین ۱۰۰ µg/ml، گلوتامین و FBS ۱۰ درصد در فلاسک‌های T75 کشت داده شد. پس از چندین دوره پاساژ سلولی، سوسپانسیون سلولی تهیه شد. در انتها به مقدار یک میلیون از سلول سوسپانسیون شده مذکور در بافر PBS در قسمت پهلوی موش‌ها به صورت زیر پوستی تزریق شد. توده سرطان پستان پس از طی ۹ الی ۱۲ روز از زمان تزریق پدیدار شد.

گروه‌های پژوهش

۱۵ میکرولیتر به خوبی حل و مخلوط شد. تمام واکنش‌ها به صورت دوتایی (دابلیکیت) انجام شد. در نهایت میکروتیوب‌ها در محل مخصوص خود در دستگاه قرار داده شد و واکنش‌های تکثیر در طی ۴۰ سیکل بر اساس دستورالعمل سازنده کیت به صورت زیر انجام شد: 95°C به مدت ۱۵ ثانیه و 60°C به مدت ۶۰ ثانیه. دما و زمان دناتوراسیون اولیه به ترتیب 95°C و ۱۰ دقیقه بود. در نهایت منحنی استاندارد و تکثیر پرایمرها توسط نرم‌افزار موجود در سیستم آنالیز و رسم شد. برای اطمینان از اختصاصی بودن محصول، واکنش منحنی دمای ذوب (Melting Curve) نیز رسم شد. برای کنترل داخلی از ژن خانه‌دار GAPDH استفاده شد و جهت کنترل کیفی محصول واکنش GAPDH مربوط به نمونه روی ژل ۲٪ انتقال داده شد و از نظر وجود و یا عدم وجود محصول بررسی شد.

واکنش بلات: برای سنجش میزان پروتئین NF-kB از روش وسترن بلات استفاده شد. ابتدا مقادیر مساوی از پروتئین توسط تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریل آمید جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ در محلول بلاکینگ برای ۱ ساعت قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی‌بادی اولیه (ابکام، آمریکا) در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در روز دوم ۳ بار با محلول TBST شستشو داده و کاغذ با آنتی‌بادی ثانویه به مدت یک ساعت انکوبه گردید. در مرحله بعد بلات‌ها در بافر استرپینگ شستشو داده شده و آنتی‌بادی NF-kB روی کاغذ اضافه شد، سپس دوباره با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شد، باندهای بدست آمده توسط برنامه ImageJ دانسیتومتری گردید. برای کنترل داخلی از پروتئین خانه‌دار GAPDH استفاده شد.

یافته‌ها

جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. برای بررسی تغییرات بین گروه کنترل و تمرین از آزمون t مستقل استفاده شد. همچنین جهت رابطه سنجی بین وزن قلب و متغیرهای یادشده از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ در سطح معناداری $p \leq 0.05$ و ترسیم نمودارها با نرم افزار Excel نسخه 2007 انجام گرفت.

نتایج

وزن قلب موش‌ها در جدول ۱ ارایه شده است، نتایج آزمون t مستقل نشان داد که وزن قلب در موش‌های گروه تمرین استقامتی به شکل چشمگیر و معناداری بالاتر از وزن قلب در موش‌های گروه کنترل بود به طوری که این میزان در گروه تمرینی ۱۴۲/۳۳ میلی‌گرم و در گروه کنترل ۸۸/۳۳ میلی‌گرم بود ($p < 0.001$). بررسی تغییرات بیان پروتئینی NF-kB در بافت قلب کاهش

بعد از مشاهده توده سرطانی در محل تزریق، موش‌ها به شکل تصادفی به دو گروه ۶ تایی شامل گروه کنترل و گروه تمرین استقامتی تقسیم شدند. در این مرحله موش‌های گروه تمرین، به مدت یک هفته و هر روز ۳ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۳ تا ۸ متر بر دقیقه با نوارگردان ویژه جوندگان آشنا شدند. برنامه تمرین استقامتی به مدت ده هفته و به صورت پنج روز در هر هفته انجام شد. سپس با استفاده از آزمون فزاینده لیندرو و همکاران سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی ($v\text{VO}_{2\text{max}}$) یا همان سرعتی است که موش در آن به $\text{VO}_{2\text{max}}$ می‌رسد محاسبه و جهت تعیین شدت تمرین استفاده شد (۲۰). هر جلسه برنامه تمرین استقامتی شامل ۶۵ دقیقه دویدن با سرعت ۶۰ تا ۶۵ درصد $v\text{VO}_{2\text{max}}$ موش‌ها بود. قبل از شروع تمرین پنج دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰ الی ۴۰ درصد $v\text{VO}_{2\text{max}}$ و در پایان تمرین، پنج دقیقه سرد کردن با همین شدت انجام گرفت (۱۷).

اندازه‌گیری حجم توده سرطان پستان

در طول مطالعه حجم توده سرطانی (V) به وسیله کولیس دیجیتالی در دو بعد طول [L] (بزرگترین بعد توده سرطان) و عرض [W] (۹۰ درجه زاویه نسبت به طول) به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. سپس از فرمول جنسن و همکارانش شامل $V=1/2(L^2 \times W)$ برای اندازه‌گیری حجم توده سرطانی استفاده شد (۲۱).

جداسازی بافت قلب

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها با تزریق درون صفاقی کامین [90 mg/kg] و زایلازین [10 mg/kg] بیهوش شده، سپس عضله قلبی بلافاصله استخراج و در نیتروژن -80°C درجه سانتی‌گراد منجمد نگهداری شد.

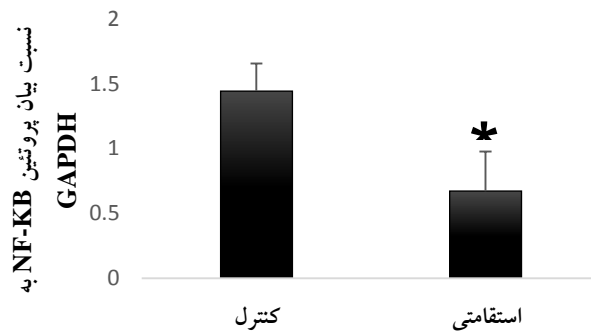
به منظور اندازه‌گیری بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در بافت قلب از روش Real Time PCR استفاده گردید. برنامه Real Time PCR با دستگاه "Rotogene 6000, Corbet" ساخت کشور آلمان انجام شد. ابتدا RNA از حدود ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم بافت عضله قلبی به وسیله ۷۰۰ لاندا ترایزول استخراج شد. قبل از سنتز cDNA برای اطمینان از عدم وجود DNA در نمونه استخراج شده، DNAs treatment (Thermo scientific، آلمان) انجام شد. سنتز cDNA با کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis kit (روشه، آلمان) و طبق دستورالعمل کیت صورت گرفت. سپس cDNA سنتز شده با ۴۰ میکرولیتر RNase & DNase-free water رقیق شد. برای سنجش بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1، هر بار ۱/۵ میکرولیتر از هر یک از رقت‌ها به همراه ۷/۵ میکرولیتر Master Mix تولید آمپلیکون (دانمارک) و ۱ میکرولیتر از پرایمر Forward و ۱ میکرولیتر از پرایمر backward در ۴ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز (Nuclease-free Water) برای رسیدن به حجم نهایی

پژوهش حاضر نشان داد ضریب همبستگی منفی معناداری بین وزن توده قلبی با بیان پروتئین NF-kB ($r=-0.753$, $p=0.005$) و بیان ژن‌های Atrogin-1 ($r=-0.887$, $p<0.001$) و MuRF-1 ($r=-0.937$, $p<0.001$) وجود دارد.

معنادار این پروتئین در گروه تمرین استقامتی را نشان می‌دهد که در نمودار ۲ آرایه شده است ($p<0.001$) (نمودار ۱). همچنین کاهش معناداری در میزان بیان ژن‌های Atrogin-1 ($p<0.001$) و MuRF-1 ($p=0.003$) در بافت عضله قلبی موش‌های گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ۲ و ۳).

جدول ۱: میانگین وزن عضله قلبی (میلی‌گرم) در دو گروه تمرین استقامتی و کنترل

گروه‌ها	انحراف از میانگین	میانگین
گروه کنترل	۲/۹۴	88.3 mg
گروه تمرین استقامتی	۴/۳۴	142.3 mg



نمودار ۱: بیان پروتئین NF-kB در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل. □ نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل



نمودار ۲: بیان ژن Atrogin-1 در بافت قلب موش‌های گروه تمرین استقامتی و گروه کنترل. □ نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل



نمودار ۳: بیان ژن MuRF-1 در بافت قلب موش‌های گروه تمرین استقامتی و کنترل. □ نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل

بحث

پژوهش حاضر به منظور بررسی تاثیر تمرین استقامتی بر سطوح پروتئین NF-kB و بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در بافت عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان پستان انجام گرفت. نتایج یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد تمرین استقامتی دویدن با تاثیر بر مکانیسم التهابی NF-kB، Atrogin-1 و MuRF-1 باعث کاهش التهاب در عضله قلبی و متعاقب آن کاهش آتروفی عضله قلبی شد. نتایج پژوهش حاضر همسو با نتایج مطالعه پادراو و همکاران در سال ۲۰۱۸ و ۲۰۱۵ است. این پژوهشگران نشان دادند که ۱۳ هفته تمرین استقامتی به صورت ۵ روز در هفته باعث کاهش بیان NF-kB در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان پستان می‌شود (۸). همچنین این پژوهشگران در مطالعه دیگری اثبات کردند که تمرین استقامتی باعث کاهش بیان NF-kB و Atrogin-1 در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان می‌شود (۹). آنها در این مطالعه نشان دادند ۳۵ هفته تمرین استقامتی با شدت ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی به مدت ۶۰ دقیقه به صورت ۵ روز در هفته با تعدیل مسیرهای پیام دهی التهابی فعال شده در قلب موش‌های مبتلا به سرطان منجر به سازگاری‌های مکانیسمی برجسته‌ای در این عضو می‌شود که می‌تواند اثر کاهشی بر آتروفی آن داشته باشد. از این رو احتمالاً ورزش استقامتی مهارکننده مسیر کلیدی التهاب در آتروفی قلبی ناشی از سرطان است که با مهار بیان بیش از حد NF-kB باعث سرکوب افزایش بیان عوامل مهمی مانند Atrogin-1 و MuRF-1 می‌شود و نهایتاً منجر به جلوگیری از فرآیند پروتئولیز، آتروفی و کاهش توده عضله قلبی می‌شود. از طرفی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که وزن قلب در گروه تمرین استقامتی به طور معناداری بیشتر از وزن قلب در گروه کنترل بود. این نتایج همسو با نتایج پادراو و همکاران در سال ۲۰۱۸ و ۲۰۱۵ (۸ و ۹) و امانی و همکاران در سال ۲۰۱۵ است (۲۴). آنها نشان دادند وزن قلب در موش‌های مبتلا به سرطان در گروه تمرینی نسبت به گروه بی‌تمرین بیشتر است (۹). همچنین در پژوهش حاضر یک رابطه معنادار منفی بین وزن قلب و کاهش سطوح پروتئین NF-kB و بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 مشاهده شد. این نتایج بدین معنی است که احتمالاً هر چه مسیر التهابی در قلب بیشتر فعال شود، پروتئولیز بیشتر و متعاقب آن وزن عضله قلب کمتر خواهد بود. به نظر می‌رسد افزایش بیان MuRF-1 در عضله قلبی نه تنها باعث مهار مکانیسم‌های سازنده درگیر در هایپرتروفی عضله قلبی می‌شوند، بلکه به عنوان یک عامل کلیدی و ضروری در ایجاد آتروفی عضله قلبی و کاهش توده عضله قلب است (۲۲). همچنین، Atrogin-1 به همراه MuRF-1 با بیان بیش از حد در سطوح پروتئینی و mRNA در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان باعث افزایش پروتئولیز و آتروفی عضله قلبی می‌شود (۲۳). با توجه به نتایج مطالعه حاضر به همراه نتایج

مطالعات گذشته، تمرین استقامتی احتمالاً با کاهش مکانیسم‌های التهابی پروتئولیزی از جمله محور NF-kB/MuRF-1/Atrogin-1 در عضله قلب مانع از پروتئولیز مایوسیت‌های قلبی و به دنبال آن مهار کاهش توده و وزن عضله قلبی در موش‌های مبتلا به سرطان می‌شود. بر این اساس، تمرین استقامتی می‌تواند باعث کاهش اختلالات قلبی در مبتلایان به سرطان شود. در یک مطالعه بالینی نشان داده شد ۱۲ هفته تمرین استقامتی در بیماران مبتلا به سرطان پستان و سرطان خون باعث کاهش چشمگیر اختلالات قلبی ناشی از دارو درمانی می‌شود (۲۵). همچنین جونز و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که ۳ تا ۵ جلسه ورزش در هفته با شدت متوسط و شدید به مدت زمان ۲۰ دقیقه با کاهش قابل ملاحظه‌ای در بروز حوادث قلبی‌عروقی در زنان مبتلا به سرطان غیر متاستاتیک پستان دارد (۲). از این رو با توجه به نتایج مطالعات گذشته و مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد تمرین استقامتی به عنوان یک روش کارآمد و مفید در به حداقل رساندن اختلالات قلبی ناشی از سرطان و روش‌های درمانی آن باشد، به شکلی که تاثیر سودمند تمرین استقامتی روی تغییر ساختاری عضله قلبی ناشی از سرطان از جمله کاهش سازوکارهای التهابی مسیر NF-kB/MuRF-1/Atrogin-1، کاهش آتروفی و فیروز عضله قلبی را تایید می‌کنند. این سازگاری قلبی در تمرینات ورزشی مربوط به علائم کمتر التهاب در عضله قلبی است (۹ و ۸). احتمالاً تمرین استقامتی از طریق تاثیر بر مکانیسم‌های التهابی از جمله محور NF-kB/MuRF-1/Atrogin-1 در بافت عضله قلبی باعث کند کردن کاهش سطح مقطع کاردیومیوسیت‌ها، توده قلبی و آتروفی قلبی و متعاقباً کاهش عوارض مخرب سرطان بر ساختار و عملکرد قلب می‌گردد. از نقاط ضعف مطالعه حاضر عدم تعیین سطح مقطع کاردیومیوسیت جهت تعیین تغییرات پاتولوژیکی در ساختار و توده بافت قلب بود. با این وجود تعیین وزن بافت قلب جهت نشان دادن اثر ضدالتهابی تمرین استقامتی بر محور NF-kB/MuRF-1/Atrogin-1، استفاده از سلول سرطانی با سرعت رشدی پائین (MC4-L2) و تعیین مقدار توانایی موش‌ها در تمرین استقامتی هفتگی (تست تعیین توان هوازی) از نقاط قوت این مطالعه هستند. در نهایت، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که احتمالاً تمرین استقامتی با شدت متوسط می‌تواند مکانیسم‌های التهابی در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان پستان از جمله افزایش بیان NF-kB/MuRF-1/Atrogin-1 را کاهش و یا مهار کند که منجر به کاهش فرآیندهای پروتئولیزی، کاهش آتروفی و از دست رفتن توده قلبی و به دنبال آن کند کردن تخریب ساختاری و عملکردی عضله قلبی در آنها می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهد، تمرین استقامتی در عضله قلبی موش‌های مبتلا به سرطان پستان، باعث بهبود ظرفیت قلبی‌عروقی می‌گردد که نوید بخش نقش سازوکار درمانی تمرین ورزشی بر کاهش عوارض ناشی از سرطان

بخش‌های مختلف در انجام این پژوهش ما را همراهی و یاری کردند صمیمانه تشکر و قدرانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

کد اخلاقی مقاله IR.SSRI.REC.1398.621 می‌باشد.

منابع مالی

تمام هزینه‌های انجام پژوهش حاضر توسط پژوهشگران تامین شده است و هیچ‌گونه حمایت مالی از طرف دانشگاه مرتبط انجام نگرفته است.

منافع متقابل

تمامی پژوهشگران پژوهش حاضر اظهار می‌کنند که منافع متقابلی از نگارش و تالیف این مقاله ندارند.

مشارکت مولفان

ن ی ش طراحی پژوهش و انجام پروتکل تمرینات ورزشی و تدوین مقاله، م پ طراحی پژوهش و ویرایش مقاله، م د طراحی پژوهش، ویرایش مقاله، انجام آنالیزهای بیوشیمیایی را عهده داشتند. همچنین نسخه نهایی مقاله ارسالی به مجله توسط تمامی نویسندگان مطالعه و تایید شده است.

ارگان‌های حیاتی بدن از جمله قلب است. با این وجود، تاثیر تمرینات ورزشی بر دیگر مسیرهای موثر بر آتروفی و هایپرتروفی قلب از جمله SMAD، AKT و MAPKA مشخص نشده است. از این رو نتیجه‌گیری قطعی را در این مورد که تمرین ورزشی بر کلیه مسیرهای موثر در اختلالات قلبی ناشی از سرطان تاثیر می‌گذارد، دشوار کرده است.

نتیجه‌گیری

احتمالاً تمرین استقامتی با تاثیر کاهنده بر مکانیسم‌های التهابی بافت قلب از جمله محور NF-kB/Atrogin-1/MuRF-1 منجر به کاهش آتروفی قلبی ناشی از سرطان و حفظ وزن عضله قلب می‌گردد. این تغییرات احتمالاً منجر به افزایش عملکرد قلبی در این بیماران شده و در نهایت باعث بهبود کیفیت زندگی آنها نیز می‌شود. از این رو احتمالاً تمرین استقامتی می‌تواند در کنار دیگر روش‌های درمانی به عنوان یک مداخله مکمل جهت کاهش عوارض قلبی ناشی از سرطان و همچنین عوارض جانبی درمانی از جمله شیمی درمانی، پروتو درمانی، هورمون درمانی و ... استفاده شود تا علاوه بر بهبود کیفیت زندگی بیماران، عملکرد قلبی عروقی آنها را از طریق کاهش آتروفی قلبی و افزایش توده قلبی بهبود بخشد.

قدردانی

نتایج پژوهش حاضر بخشی از یافته‌های پایان‌نامه دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی است. از تمامی همکاران گرامی که در

References

- Argilés JM, Busquets S, Stemmler B, López-Soriano FJ. Cancer cachexia: understanding the molecular basis. *Nat Rev Cancer*. 2014 Nov;14(11):754-62. doi: 10.1038/nrc3829. Epub 2014 Oct 9. PMID: 25291291.
- Jones LW, Habel LA, Weltzien E, Castillo A, Gupta D, Kroenke CH, et al. Exercise and Risk of Cardiovascular Events in Women With Nonmetastatic Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2016 Aug 10;34(23):2743-9. doi: 10.1200/JCO.2015.65.6603. Epub 2016 May 23. PMID: 27217451; PMCID: PMC5019746.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018 Nov;68(6):394-424. doi: 10.3322/caac.21492. Epub 2018 Sep 12. Erratum in: *CA Cancer J Clin*. 2020 Jul;70(4):313. PMID: 30207593.
- Himbert C, Delphan M, Scherer D, Bowers LW, Hursting S, Ulrich CM. Signals from the Adipose Microenvironment and the Obesity-Cancer Link-A Systematic Review. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2017 Sep;10(9):494-506. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-16-0322. PMID: 28864539; PMCID: PMC5898450.
- Argilés JM, Stemmler B, López-Soriano FJ, Busquets S. Inter-tissue communication in cancer cachexia. *Nat Rev Endocrinol*. 2018 Dec;15(1):9-20. doi: 10.1038/s41574-018-0123-0. PMID: 30464312.
- Anker MS, von Haehling S, Landmesser U, Coats AJS, Anker SD. Cancer and heart failure-more than meets the eye: common risk factors and co-morbidities. *Eur J Heart Fail*. 2018 Oct;20(10):1382-4. doi: 10.1002/ejhf.1252. Epub 2018 Jun 26. PMID: 29943887.
- Pietzsch S, Ricke-Hoch M, Stapel B, Hilfiker-Kleiner D. Modulation of cardiac AKT and STAT3 signalling in preclinical cancer models and their impact on the heart. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2020 Mar;1867(3):118519. doi: 10.1016/j.bbamcr.2019.07.014. Epub 2019 Jul 31. PMID: 31374232.
- Padrão AI, Nogueira-Ferreira R, Vitorino R, Carvalho D, Correia C, Neuparth MJ, et al. Exercise training

- protects against cancer-induced cardiac remodeling in an animal model of urothelial carcinoma. *Arch Biochem Biophys.* 2018 May 1;645:12-8. doi: 10.1016/j.abb.2018.03.013. Epub 2018 Mar 13. PMID: 29548774.
9. Padrão AI, Moreira-Gonçalves D, Oliveira PA, Teixeira C, Faustino-Rocha AI, Helguero L, et al. Endurance training prevents TWEAK but not myostatin-mediated cardiac remodeling in cancer cachexia. *Arch Biochem Biophys.* 2015 Feb 1;567:13-21. doi: 10.1016/j.abb.2014.12.026. Epub 2015 Jan 6. PMID: 25575785.
 10. Demissei BG, Freedman G, Feigenberg SJ, Plastaras JP, Maity A, Smith AM, et al. Early Changes in Cardiovascular Biomarkers with Contemporary Thoracic Radiation Therapy for Breast Cancer, Lung Cancer, and Lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2019 Mar 15;103(4):851-60. doi: 10.1016/j.ijrobp.2018.11.013. Epub 2018 Nov 14. PMID: 30445173; PMCID: PMC6722323.
 11. van den Bogaard VA, van Luijk P, Hummel YM, van der Meer P, Schuit E, Boerman LM, et al. Cardiac function after radiation therapy for breast cancer. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics.* 2019 Jun 1;104(2):392-400. doi: 10.1016/j.ijrobp.2019.02.003
 12. Murphy KT. The pathogenesis and treatment of cardiac atrophy in cancer cachexia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2016 Feb 15;310(4):H466-77. doi: 10.1152/ajpheart.00720.2015. Epub 2015 Dec 30. PMID: 26718971.
 13. Wysong A, Couch M, Shadfar S, Li L, Rodriguez JE, Asher S, et al. NF-κB inhibition protects against tumor-induced cardiac atrophy in vivo. *Am J Pathol.* 2011 Mar;178(3):1059-68. doi: 10.1016/j.ajpath.2010.12.009. Erratum in: *Am J Pathol.* 2011 Jul;179(1):537. Li, Lugi [corrected to Li, Luge]. PMID: 21356358; PMCID: PMC3070568.
 14. Squires RW, Shultz AM, Herrmann J. Exercise Training and Cardiovascular Health in Cancer Patients. *Curr Oncol Rep.* 2018 Mar 10;20(3):27. doi: 10.1007/s11912-018-0681-2. PMID: 29525828.
 15. Delphan M, Rashidlamir A, Delphan F. Resting plasma agrp levels response to exercise-conjugated diet and only diet. *Biology of Sport* 2012;29(1):45-50. doi: 10.5604/20831862.979855
 16. Perreault L. Obesity in adults: Role of physical activity and exercise. In *Up ToDate*, D.J.S. F Xavier Pi-Sunyer, Editor 2018.
 17. Agha-Alinejad H, Hashemi Jokar E. Effect of Six Weeks of Interval Exercise Training along with Selenium Nanoparticle Ingestion on Bcl-2 and LC3 Genes expression in the Tumor Tissue of Breast Tumor-Bearing Mice. *Iranian Quarterly Journal of Breast Disease.* 2019 Aug 10;12(2):26-37. [Persian]. doi: 10.30699/acadpub.ijbd.12.2.26
 18. Khorri V, Amani Shalamzari S, 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. *European Journal of Pharmacology* 2015;765:179-87. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.08.031
 19. Hojman P, Gehl J, Christensen JF, Pedersen BK. Molecular Mechanisms Linking Exercise to Cancer Prevention and Treatment. *Cell Metab.* 2018 Jan 9;27(1):10-21. doi: 10.1016/j.cmet.2017.09.015. Epub 2017 Oct 19. PMID: 29056514.
 20. Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology* 2007;14(6):753-60. doi: 10.1097/hjr.0b013e3281eacef1
 21. Jensen MM, Jorgensen JT, Binderup T, Kjaer A. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microCT is more accurate and reproducible than determined by 18F-FDG-microPET or external caliper. *BMC Medical Imaging* 2008;8:16. doi: 10.1186/1471-2342-8-16
 22. Willis MS, Rojas M, Li L, Selzman CH, Tang RH, Stansfield WE, et al. Muscle ring finger 1 mediates cardiac atrophy in vivo. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 2009;296(4):H997-h1006. doi: 10.1152/ajpheart.00660.2008
 23. Tian M, Asp ML, Nishijima Y, Belury MA. Evidence for cardiac atrophic remodeling in cancer-induced cachexia in mice. *International Journal of Oncology* 2011;39(5):1321-6. doi: 10.3892/ijo.2011.1150
 24. Shalamzari SA, Daneshfar A, Sablouei MH, Singh MAF, Kazemi A. The Effect of Aerobic Training on Tumor Growth, Adiponectin, Leptin and Ghrelin in Mice Models of Breast Cancer. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 2018;20(2). doi: 10.5812/ircmj.13305
 25. Heinze-Milne S. Exercise to prevent anthracycline-based cardiotoxicity in individuals with breast or hematological cancers. *Dissertation, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia* 2018.