

## The Effect of Endurance Training in Combination with Curcumin on Intratumoral Gene Expression of AngiomiR-126 and Angiopoietin-1 in Female Mice with Breast Cancer

Kouchaki Langroudi F <sup>\*1</sup>, Peeri M<sup>1</sup>, Delfan M<sup>2</sup>

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

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

\* *Corresponding author.* Tel: +982184992120, Fax: +982188620136, E-mail: [fakouchaki@irimed.org](mailto:fakouchaki@irimed.org)

Received: Feb 6, 2021 Accepted: May 20, 2021

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Breast cancer is one of the most common diseases and the leading cause of death among women worldwide. The aim of the present study was to determine the effects of five weeks of endurance training in combination with curcumin on the cancer progression, intratumoral gene expression of angiomiR-126 and Angiopoietin-1 in breast cancer bearing female BALB/c mice.

**Methods:** The present study was an experimental study. 4T1 breast cancer was transplanted into forty female BALB/c mice. Afterward, they were randomly divided into four groups including, a control group (C), an endurance training group (E), an endurance training along with curcumin (EC) and curcumin group (CC). E and EC groups performed 40 min at a constant running intensity corresponding to 60-65%  $vV_{O_{2peak}}$  at 0% inclination, 5 weeks (five days a week). CC and EC groups were treated by oral gavage with curcumin for five weeks (six days a week). Then, tumor tissue of all mice was extracted 24 hour after the last training session. Gene expression levels of miR-126 and angiopoietin-1 were determined by qReal-time PCR. Statistical data values were also measured by One-way ANOVA.

**Results:** The results showed a significant inhibition of cancer growth, increased gene expression of miR-126 ( $p < 0.001$ ) and decreased angiopoietin-1 gene expression ( $p < 0.001$ ) in E, CC, and especially E-C compared to control group. All of these changes were significantly greater in the EC group than in the other intervention groups ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** It seems that five weeks of endurance training with curcumin supplementation possibly have a further effect on decreasing breast cancer mass growth by inhibiting miR-126 /angiopoietin-1 axis compared to other interventions alone.

**Keywords:** Endurance Training; Curcumin; miR-126; Angiopoietin-1; Breast Cancer

## تأثیر تمرین استقامتی و مکمل یاری کورکومین بر بیان ژن‌های اینتراتوموری Angiopoietin-1 و angiomiR-126 در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان

فرامرز کوچکی لنگرودی<sup>۱\*</sup>، مقصود پیری<sup>۱</sup>، مریم دلفان<sup>۲</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۱۸۴۹۹۲۱۲۰ فاکس: ۰۲۱۸۸۶۲۰۱۳۶ پست الکترونیک: fakouchaki@irimed.org

### چکیده

**زمینه و هدف:** سرطان پستان شایع‌ترین بیماری و مهم‌ترین عامل مرگ و میر زنان در سراسر دنیا به شمار می‌رود. هدف مطالعه حاضر تعیین تأثیر پنج هفته تمرین استقامتی به همراه مکمل یاری کورکومین بر بیان ژن‌های اینتراتوموری Angiopoietin-1 و AngiomiR-126 در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان بود.

**روش کار:** پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. ۴۰ سر موش ماده آزمایشگاهی نژاد بلب‌سی پس از پیوند سرطان پستان 4T1، به چهار گروه کنترل، تمرین استقامتی، کورکومین، تمرین استقامتی- کورکومین تقسیم شدند. گروه تمرین استقامتی و تمرین- کورکومین به مدت ۵ هفته (پنج روز در هفته) روزانه ۴۰ دقیقه با شدت ۶۵-۶۰ درصد  $v\dot{V}O_{2peak}$  و شیب صفر درجه بر روی نوار گردان دویدند. گروه کورکومین و تمرین- کورکومین نیز به مدت پنج هفته و شش روز در هفته تحت کاواژ کورکومین قرار گرفتند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، جداسازی بافت سرطان انجام شد. بیان ژن‌های Angiopoietin-1 و miR-126 به روش qReal time-PCR در بافت سرطان پستان سنجیده شد. داده‌ها نیز با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** نتایج پژوهش حاضر مهار رشد سرطان پستان، افزایش معنادار بیان ژن miR-126 ( $p < 0/001$ ) و کاهش معنادار بیان ژن Angiopoietin-1 ( $p < 0/001$ ) در بافت سرطان گروه تمرین نسبت به گروه کنترل را نشان داد. همه این تغییرات در گروه تمرین- کورکومین نسبت به گروه‌های مداخله دیگر به طور معناداری بیشتر بود ( $p < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد پنج هفته تمرین استقامتی به همراه مکمل یاری کورکومین احتمالاً با تأثیر بر آیندی باعث کاهش بیشتر رشد توده سرطان پستان از طریق مهار موثرتر محور miR-126/Angiopoietin-1 نسبت به مداخله‌های دیگر به تنهایی می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین استقامتی، کورکومین، miR-126، Angiopoietin-1، سرطان پستان

دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۸ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۳۰

### مقدمه

سوی دیگر، به عنوان اصلی‌ترین عامل مرگ و میر زنان قلمداد می‌شود [۱]. آنژیوژنز<sup>۱</sup> با توجه به نقش اساسی که در رشد، پیشرفت و پتانسیل متاستازی

بر اساس آخرین گزارش‌ها در سال ۲۰۱۸، سرطان پستان در سراسر دنیا عنوان شایع‌ترین نوع سرطان در میان زنان را به خود اختصاص داده است، و از

<sup>۱</sup> Angiogenesis

سرطان پستان دارد [۳، ۲] به عنوان یکی از مهمترین مسائل در حوزه انکولوژی<sup>۱</sup> و انکولوژی ورزشی است که محققان با جدیت در حال انجام مطالعات در این مبحث هستند [۴]. از اینرو، آنژیوژنز در بافت سرطان به یک هدف مهم در درمان انواع سرطان‌ها [۵] از جمله سرطان پستان تبدیل شده است [۶]. تشکیل رگ‌های خونی جدید در ریزمحیط بافت سرطان یک فرآیند پیچیده است که توسط چند مسیر سیگنالینگ از جمله VEGF<sup>۲</sup>، HIF<sup>۳</sup> [۶] و آنژیومیرها (AngiomiRs) تحریک و کنترل می‌شود [۷]. در این میان، miR-126 به عنوان یکی از مهمترین آنژیومیرها در سرطان پستان است که بیان آن به شدت مهار می‌شود. کاهش بیان این آنژیومیر از طریق فعال‌سازی مسیرهای آنژیوژنزی باعث توسعه سرطان پستان می‌شود [۷]. به نحوی که، این آنژیومیر از طریق افزایش چشمگیر فعالیت Angiopoietin-1 باعث بلوغ و تثبیت عروق و نهایتاً توسعه شبکه عروقی می‌شود [۸]. این سازوکارها نشان دهنده اهمیت بالای این مسیر در حیطه انکولوژی است. از سوی دیگر، تمرینات ورزشی به عنوان یک راه‌کار کمک درمانی در کاستن و مهار رشد و توسعه سرطان [۹، ۱۰] می‌تواند رگزایی را در بافت توده سرطانی از طریق بازداری سازوکارهای متفاوت مهار کند [۱۱]. علاوه بر این، نشان داده شده است که کورکومین<sup>۴</sup> به عنوان یک عامل ضد سرطانی از طریق مهار توسعه شبکه عروقی در بافت سرطان [۱۲] نیز می‌تواند باعث مهار رشد و توسعه سرطان شود [۱۳]. اینکه تمرین ورزشی به عنوان یک روش جانبی درمانی با ضریب خطر تقریباً صفر می‌تواند در کنار دیگر روش‌های درمانی در مطالعات بالینی و پیش‌بالینی استفاده شود، نشان از اهمیت بالا و ضرورت این نوع مداخله در حوزه انکولوژی دارد [۱۴]. اما از مسائل دیگری که امروزه

محققان در این حوزه و حوزه انکولوژی ورزشی به دنبال ایجاد شفافیت بیشتر در آن هستند، تعیین نقش برآیندی تمرین ورزشی در ترکیب با دیگر روش‌های درمانی و یا مکمل‌ها از جمله کورکومین است. اما اینکه این تاثیر برآیندی تمرین ورزشی در کنار مکمل‌هایی از جمله کورکومین بیشتر از طریق چه مکانیزم‌هایی (رگزایی، آپوپتوز، متابولیسم) می‌تواند مسیر رشد و توسعه سلول‌های سرطانی در بافت پستان را مهار کند هنوز هم به عنوان مسئله‌ای بی پاسخ قلمداد می‌شود، که نیاز به پژوهش‌های بیشتر در این حیطه ضروری است. از اینرو، محققین پژوهش حاضر با در نظر گرفتن اهمیت و ضرورت‌های مذکور به دنبال پاسخ‌گویی به این سوال بودند که آیا پنج هفته تمرین استقامتی در ترکیب با کورکومین تاثیر برآیندی بر توسعه و رشد سرطان از طریق محور miR-126/Angiopoietin-1 دارد؟ بر این اساس، هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر تمرین استقامتی به همراه مکمل یاری کورکومین بر رشد و توسعه حجم توده سرطانی، بیان ژن‌های miR-126 و Angiopoietin-1 بود.

## روش کار

### نمونه‌های پژوهش

برای پژوهش تجربی و آزمایشگاهی حاضر، ۴۰ سر موش آزمایشگاهی ماده نژاد بالبسی (۴-۵ هفته، وزن ۱۳ تا ۱۵ گرم) از موسسه تحقیقاتی پاستور تهران خریداری شد. شرایط استاندارد آزمایشگاهی از جمله رطوبت ۵۰-۶۰ درصد، دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتیگراد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ به منظور نگهداری حیوانات در طول دوره پژوهش رعایت گردید. آب و غذای مخصوص به شکل آزادانه در دسترس همه حیوانات قرار گرفت. در کلیه مراحل پژوهش، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران با دریافت کد اخلاق

<sup>1</sup> Oncology

<sup>2</sup> Vascular Endothelial Growth Factors

<sup>3</sup> Hypoxia-Inducible Factor

<sup>4</sup> Curcumin

IR.SSRI.REC.1398.620 از پژوهشگاه علوم ورزشی توسط پژوهشگران رعایت گردید.

**نحوه پیوند سرطان پستان در موش‌های مورد مطالعه**  
ابتدا سرطان پستان از نوع 4T1 از دو سر موش نژاد بالبسی که قبلاً به آنها سلول سرطان پستان 4T1 تزریق شده بود، جدا شده و در ابعاد ۳ در ۴ میلی‌متری تقسیم شدند. سپس موش‌های مورد مطالعه با استفاده از تزریق ترکیبی از کنامین و زایلازین بیهوش شدند. در مرحله بعد، این توده‌ها به صورت زیر پوستی و در قسمت پهلو راست موش‌ها پیوند داده شد. پس از پیوند توده سرطانی با استفاده از دستگاه بخیه فوری محل جراحی بخیه شد. در انتها از چسب بخیه جهت فیکس کردن توده سرطانی پیوندشده، استفاده شد.

**اندازه‌گیری ابعاد و محاسبه حجم توده سرطان پستان**  
سه روز پس از پیوند و بهبود وضعیت موش‌ها و بازگشت آنها به وضعیت طبیعی، ابعاد توده سرطانی با استفاده از کولیس دیجیتالی در دو بعد طول [L] به عنوان بزرگترین بعد تومور و عرض [W] آن به عنوان بعد دیگر با زاویه ۹۰ درجه نسبت به طول آن، هفته‌ای دو بار اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس حجم توده سرطانی با استفاده از فرمول  $[V=1/2(L^2 \times W)]$  محاسبه شد [۱۵].

#### نحوه گروه‌بندی موش‌ها

بعد از اینکه توده سرطانی از موش‌های استوک به موش‌های پژوهش حاضر پیوند زده شد، موش‌ها به شکل کاملاً تصادفی به ۴ گروه شامل: ۱. گروه تمرین استقامتی (E)، ۲. گروه کورکومین (CC)، ۳. گروه تمرین- کورکومین (EC) و ۴. گروه کنترل (C) تقسیم شدند. موش‌های گروه E پروتکل ورزش استقامتی به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ثابت ۶۰ تا ۶۵ درصد  $vV_{O_{2peak}}$  و با شیب صفر به مدت پنج هفته و هر هفته ۵ روز روی تردمیل مخصوص جوندگان دویدند. قبل از شروع پروتکل موش‌ها به مدت پنج دقیقه با شدت ۴۰-۳۵ درصد  $vV_{O_{2peak}}$  جهت

گرم کردن دویدند. و همچنین در انتهای پروتکل موش‌های این گروه پنج دقیقه دویدن با شدت ۴۰-۳۵ درصد  $vV_{O_{2peak}}$  جهت سرد کردن انجام دادند. موش‌های گروه CC نیز به مدت پنج هفته و ۶ روز در هفته مورد گاوژ کورکومین به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای وزن بدن  $100\text{mg/kg}_{wt}$  قرار گرفتند. بر روی موش‌های گروه EC نیز هر دو مداخله تمرین استقامتی و گاوژ کورکومین با هم و تحت شرایط مذکور به مدت پنج هفته انجام گرفت. در طول مطالعه موش‌های گروه کنترل نیز تحت هیچ گونه مداخله‌ای از جمله برنامه فعالیت ورزشی و گاوژ کورکومین قرار نگرفتند. در طول مطالعه سعی شد که شرایط کاملاً یکسانی برای تمامی گروه‌ها در نظر گرفته شود. به نحوی که موش‌های گروه C و CC در هر جلسه به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه بر روی نوارگردان خاموش و بی حرکت قرار گرفتند. علاوه بر این، این گروه‌ها در معرض صدای تردمیل به هنگام انجام تمرینات ورزشی توسط گروه‌های تمرینی قرار داده شدند. از سوی دیگر، موش‌های گروه C و گروه E تحت گاوژ آب قرار گرفتند. این کار جهت یکسان سازی تمام گروه‌ها به استرس ناشی از تردمیل، صدای تردمیل و گاوژ، انجام گرفت. سرعت و شدت پروتکل ورزشی نیز با استناد به روشی که دلفان و همکارانش در سال ۲۰۱۷ به کار برده بودند [۱۰]، هر دو هفته یکبار تعیین شد.

#### جداسازی بافت سرطان پستان

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و آخرین مرحله گاوژ، موش‌ها بوسیله تزریق درون صفاقی ترکیبی از ماده کنامین  $[90\text{ mg/kg}]$  و ماده زایلازین  $[10\text{ mg/kg}]$  بیهوش شدند. پس از آن، بافت‌های سرطان پستان بلافاصله جداسازی شد و در تانک نیتروژن مایع قرار داده شد. سپس تا زمان تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی بافت سرطان، نمونه‌ها در دمای ۸۰- منجمد نگهداری شدند.

### سنجش بیان ژن‌های miR-126 و Angiopoietin-1

استخراج RNA و microRNA به وسیله کیت استخراج miRNeasy Mini (Qiagen، آلمان) و طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت. نسبت جذبی ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر برای تمامی نمونه‌های استخراج شده بین ۱/۸ تا ۲ بود، سپس برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده از روش الکتروفورز و ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. همچنین از DNAs Treatment (Thermo scientific، آلمان) برای اطمینان از عدم وجود DNA در نمونه‌ها و در مرحله پیش از سنتز cDNA استفاده گردید. سنتز cDNA برای Angiopoietin-1 در بافت سرطان پستان از کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis kit (Roche، آلمان) و سنتز cDNA برای miR-126 از کیت miScript II RT Kit (Qiagen، آلمان) و طبق دستورالعمل کیت‌های مذکور انجام شد. qReal time PCR با استفاده از دستگاه (Rotogene 6000, Corbet) انجام شد. برنامه real time برای بررسی میزان بیان Angiopoietin-1 بر اساس سایبرگرین شرکت Ampliqon (دانمارک) و شامل: یک چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه انجام شد. برنامه real time برای miR-126 بر اساس سایبرگرین شرکت Qiagen (آلمان) و شامل: یک چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ چرخه با ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه انجام شد. در پایان، نرم افزار موجود در سیستم منحنی استاندارد و تکثیر پرایمرها را تجزیه و تحلیل و همچنین رسم کرد. علاوه بر این رسم منحنی دمای ذوب<sup>۱</sup> نیز توسط سیستم اطمینان از اختصاصی

<sup>۱</sup> Melting Curve

بودن محصول واکنش را برای پژوهشگران فراهم کرد. کنترل داخلی برای ژن Angiopoietin-1 توسط ژن خانه‌داری GAPDH (پیشگام) و کنترل داخلی برای miR-126 با استفاده از Snord 61 (Qiagen، آلمان) انجام گرفت. در نهایت کمی‌سازی داده‌ها با استفاده از فرمول  $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$  انجام شد.

### تجزیه و تحلیل آماری یافته‌ها

از میانگین و انحراف استاندارد ( $\pm$ ) جهت توصیف داده‌ها استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها نیز با استفاده از آزمون آماری کولموگروف اسمیرنوف (K-S) انجام گرفت. با توجه به اینکه این آزمون سطح معناداری را نشان نداد ( $p > 0.05$ )، از روش آمار استنباطی ANOVA یکطرفه<sup>۲</sup> برای ارزیابی تعیین اثر تمرین و مکمل کورکومین استفاده شد. در نهایت برای تعیین جایگاه معناداری مداخله‌ها از آزمون تعقیبی توکی<sup>۳</sup> (در سطح معنی‌داری ۰/۰۵) استفاده گردید. نمودارها بوسیله نرم افزار Microsoft Excel 2007 رسم شدند و تمام تجزیه و تحلیل‌های آماری توسط نرم افزار SPSS-21 انجام گرفت.

### یافته‌ها

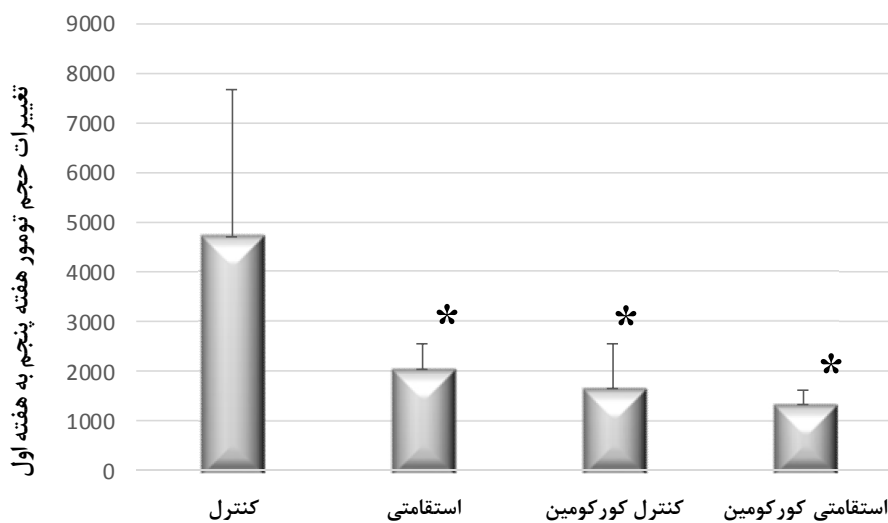
در نمودار ۱ مقادیر مربوط به میانگین حجم سرطان پستان در گروه‌های پژوهش به تفکیک ارائه گردیده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مداخله‌های E، CC و EC باعث مهار رشد و حجم سرطان پستان در این گروه‌ها نسبت به گروه کنترل شد. همچنین این اثر مهاری بر کاهش رشد و حجم توده سرطان در گروه EC نسبت به بقیه گروه‌های مداخله‌ای چشمگیرتر بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک سویه نشان داد که در بیان ژن‌های miR-126 و Angiopoietin-1 در بین گروه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود دارد ( $p < 0.01$ ). علاوه بر این، نتایج بررسی بین گروهی توسط آزمون توکی نشان داد که افزایش

<sup>۲</sup> One Way ANOVA

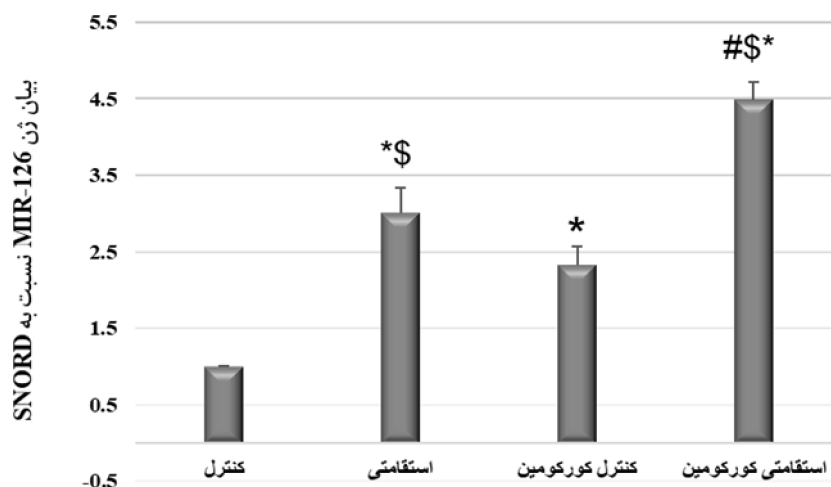
<sup>۳</sup> Tukey

معنادار miR-126 در گروه تمرین- کورکومین ( $p < 0.001$ )، کورکومین ( $p < 0.05$ ) و گروه تمرین استقامتی ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت. علاوه بر این اثر برآیندی گروه تمرین استقامتی- کورکومین در مهار بیان ژن Angiopoietin-1 نسبت به گروه کورکومین ( $p < 0.05$ ) و همچنین اثر بازدارندگی گروه تمرین استقامتی ( $p < 0.05$ ) بر بیان ژن Angiopoietin-1 به طور معناداری بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). (نمودار ۳).

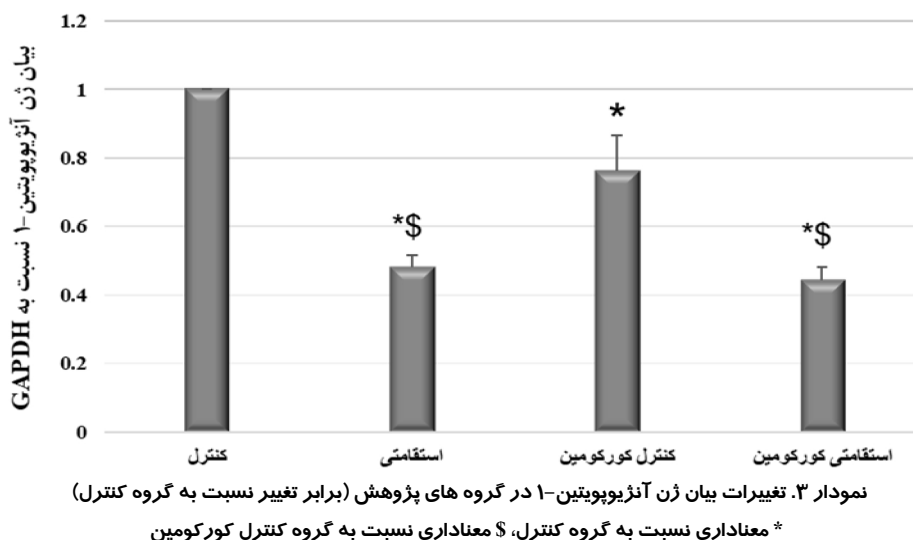
معنادار miR-126 در گروه تمرین- کورکومین ( $p < 0.001$ ) کورکومین ( $p < 0.05$ ) و گروه تمرین استقامتی ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل وجود داشت ( $p < 0.001$ ). مهمتر اینکه افزایش بیان ژن miR-126 در گروه تمرین استقامتی- کورکومین نسبت به گروه کورکومین ( $p < 0.001$ ) و گروه تمرین استقامتی ( $p < 0.05$ ) به طور معناداری بیشتر بود (نمودار ۲). همچنین مشاهده شد که بیان ژن Angiopoietin-1 در گروه تمرین- کورکومین



نمودار ۱. تغییرات حجم تومور در هفته پنجم نسبت به هفته اول موش‌ها در گروه‌های پژوهش \* معناداری نسبت به گروه کنترل



نمودار ۲. تغییرات بیان ژن miR-126 در گروه‌های پژوهش \* معناداری نسبت به گروه کنترل، \$ معناداری نسبت به گروه کنترل کورکومین، # معناداری نسبت به گروه تمرین استقامتی



### بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پنج هفته تمرین استقامتی، مکمل یاری<sup>۱</sup> کورکومین و ترکیب هر دو مداخله روند رشد و توسعه سرطان پستان را در همه گروه ها نسبت به گروه کنترل کند می کند. به نحوی که حجم توده سرطانی در گروه های مداخله ای به نحو چشمگیر و معناداری کمتر از حجم آن در هم تایان گروه کنترل بود. مطالعه حاضر نشان داد که تمرین استقامتی، مکمل کورکومین و ترکیبی از هر دو مداخله باعث افزایش معنادار بیان ژن miR-126 و کاهش معنادار Angiopoietin-1 در بافت سرطان پستان در مقایسه با گروه کنترل شد. در این رابطه مطالعه حاضر به نتایج مهمتری نیز دست یافت، و آن اینکه نشان داد مداخله تمرین- کورکومین نه تنها باعث ایجاد یک اثر برآیندی قوی در مهار رشد توده سرطانی نسبت به گروه های تمرین و کورکومین به تنهایی می شود، بلکه اثر برآیندی قوی در مهار آنژیوزنز اینتراتوموری از طریق تاثیر معنادارتر بر افزایش بیان ژن آنژیومیر ۱۲۶ نسبت به گروه تمرین و گروه استقامتی و همچنین مهار بیان ژن

Angiopoietin-1 به شکل معنادارتر نسبت به گروه کورکومین داشت. نتایج مطالعه حاضر در رابطه با مهار رشد و توسعه حجم سرطان پستان در گروه تمرین استقامتی با نتایج منتج شده از مطالعات گذشته همسو می باشد [۱۰، ۱۱، ۱۵-۱۷]. چنانچه مطالعات گذشته نشان دادند که تمرین استقامتی با مهار mRNA-21، سطوح استرادیول و گیرنده استروژن آلفا، افزایش mRNA-206، کاهش سطوح هایپوکسی درون تومور و القاء چگالی مویرگی درون تومور و همچنین از طریق افزایش نسبت CD8+ به FoxP3+ بافت تومور، رشد سرطان پستان را در موش های بالبسی مهار می کند. در تایید نتایج مکانیزی مطالعه حاضر نیز احمدیان و همکارانش در سال ۲۰۱۸ و ۲۰۱۹ در دو مطالعه نشان دادند HIIT<sup>۲</sup> با مهار Angiopoietin-1 و کاهش سطوح پروتئینی Tie2 و تمرین استقامتی با کاهش بیان ژن STAT3، Angiopoietin-1 و کاهش سطوح پروتئینی Tie2 در بافت سرطان پستان باعث مهار آنژیوزنز و متعاقباً کاهش روند رشد سرطان پستان در مدل های حیوانی می شوند [۱۸، ۱۹]. علاوه بر این، نصیری و همکاران

<sup>۱</sup> Supplementation

<sup>۲</sup> High-Intensity Interval Training

نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین استقامتی منجر به مهار رگ‌زایی از طریق افزایش بیان ژن اینتراتوموری miR-126 در بافت سرطان پستان در موش‌های مبتلا به سرطان پستان می‌شود [۲۰]. از سوی دیگر، نتایج پژوهش حاضر در رابطه با کاهش رشد و توسعه توده سرطان در گروه مکمل یاری کورکومین با نتایج مطالعات گذشته همسو است [۲۱، ۲۲]. به نحوی که، این محققین نشان دادند کورکومین چه به تنهایی و چه در ترکیب با مکمل‌های دیگر به ترتیب با مهار مسیر پیام‌دهی Smad و همچنین تأثیر بر ریزمحیط درون تومور شامل کاهش pH درون سلولی، تغییر در متابولیسم توموری، کاهش جذب گلوکز، تغییر در پروتئین‌های منوکرئوبوسیلات از جمله MCT4 و MCT1 و مسیرهای پیام‌دهی متعدد دیگر باعث مهار رشد و متاستاز سرطان می‌شود. در راستای مکانیزمی نیز محققین نشان دادند که کورکومین با کاهش ژن Angiopoietin-1 و Angiopoietin-2 در موش‌های مبتلا به سرطان و همچنین در حالت درون‌کشتگاهی<sup>۱</sup> باعث کاهش تعداد و تراکم مویرگی در بافت تومور و متعاقب آن کاهش حجم و رشد و توسعه توده سرطان شد [۲۳]. اما از مهمترین نتایج پژوهش حاضر و حتی از نقاط قوت آن تأثیر برآیندی تمرین به همراه مکمل یاری کورکومین نسبت به گروه‌های مداخله‌ای دیگر در مهار معنادارتر رشد توده سرطانی و مکانیزم‌های مورد مطالعه بود. حتی در حوزه‌هایی غیر از حوزه انکولوژی از جمله حوزه تندرستی نیز تأثیر کارآمدتر اثر برآیندی چند مداخله با هم نسبت به اثر هر کدام از آنها به تنهایی نیز به اثبات رسیده است [۲۴، ۲۵]. با این وجود، فقدان حتی یک مطالعه در رابطه با تأثیر برآیندی تمرین ورزشی به همراه مکمل کورکومین در حیطه انکولوژی و ورزشی تفسیر قطعی این نتایج را مقداری دشوار کرده است. با این حال، تمرین در کنار مکمل یاری کورکومین احتمالاً به عنوان یک محرک قوی در ریز محیط بافت سرطان پستان

<sup>1</sup> In vitro

عمل می‌کند که به موجب آن روند رشد سلول‌های سرطانی را با تعدیل کارآمدتر محور رگ‌زایی miR-126/Angiopoietin-1 به صورت چشمگیرتری مهار می‌کند، که تأییدی دیگر بر سودمندتر بودن این دو مداخله در کنار هم نسبت به هر کدام از آنان به تنهایی در مهار رشد سرطان پستان از طریق بازدارندگی چشمگیرتر بر ایجاد، ثبات و بلوغ شبکه مویرگی اینتراتوموری است. علی‌رغم این موضوع، عدم سنجش و اندازه‌گیری چگالی مویرگی بافت سرطان پستان می‌تواند از نقاط ضعف مطالعه حاضر به شمار رود. اما شواهد علمی نشان داده‌اند که آنژیومیر ۱۲۶ با واسطه تنظیم PI3K، نه تنها باعث تنظیم دقیق سیگنالینگ VEGF می‌شود، بلکه به شدت در فعال‌سازی Angiopoietin-1 دخیل است [۸]. همانطور که VEGF در رشد و عملکرد عروق حیاتی است [۸]، Angiopoietin-1 نیز نقش مهم و مکمل گونه در رشد و عملکرد عروق را ایفا می‌کند [۸، ۲۶] و به ثبات و بلوغ رشد رگ‌های خونی کمک شایانی می‌کند [۸]. از اینرو، ورزش، کورکومین و مهمتر از آن تأثیر برآیندی این دو مداخله با هم بر آنژیومیر ۱۲۶ و ژن هدفش Angiopoietin-1 باعث مهار تکثیر، ثبات و بلوغ عروق خونی در توده سرطان پستان می‌شود. بر این اساس، ما اثبات کردیم اثر برآیندی دو مداخله با هم خیلی قویتر از اثر هر مداخله به تنهایی در مهار یکی از مهمترین سازوکارهای درگیر در افزایش حجم توده سرطان پستان و رگ‌زایی اینتراتوموری است که توسط فعال‌سازی محور miR-126/Angiopoietin-1 اتفاق می‌افتد. از سوی دیگر، علاوه بر VEGF و گیرنده‌های آن [۲۷]، miR-126 به عنوان مسیر بالادستی آن [۲۸] و همچنین Angiopoietin-1 [۲۶] به عنوان رایج‌ترین مولکول‌های هدفمند برای داروهای ضد رگ‌زایی در انواع مختلف رشد توده سرطانی در نظر گرفته می‌شوند. این موضوع نیز بر اهمیت آن در تحقیق حاضر دلالت می‌کند. در نهایت، احتمالاً ترکیب دو



سرطان و رشد آن و همچنین مکانیزم‌هایی همچون آپوپتوز، اتوفاژی مطالعات بیشتر در آینده لازم و ضروری است.

### تشکر و قدردانی

نتایج پژوهش حاضر بخشی از یافته‌های پروژه تحقیقاتی مربوط به رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی به شمار می‌رود. از تمامی کسانی که در بخش‌های مختلف این تحقیق محققین را یاری نمودند صمیمانه قدردانی می‌شود.

### تضاد منافع

بر اساس اظهار نظر تمامی پژوهشگران پژوهش حاضر هیچ گونه منافع متقابلی از نگارش و تالیف این مقاله وجود ندارد.

### منابع مالی

کلیه هزینه‌های انجام پژوهش حاضر توسط پژوهشگران تامین شده و از طرف دانشگاه مرتبط هیچ گونه حمایت مالی انجام نگرفته است.

مداخله با هم می‌تواند به عنوان یک محرک قوی‌تر و موثرتر نسبت به هر کدام از مداخله‌ها به تنهایی بر محور رگزایی مذکور به علت اثر هم‌افزایی که این دو مداخله بر هم دارند عمل کند. این عمل به نوبه خود منجر به افزایش خیلی چشمگیرتر miR-126 و متعاقباً کاهش معنادارتر Angiopoitin-1 می‌شود.

### نتیجه‌گیری

احتمالاً ترکیب تمرین استقامتی با کورکومین با هم یک تاثیر برآیندی قوی در ریزمحیط سرطان پستان ایجاد می‌کنند که منجر به اثر مهارری کارآمدتر بر فعال‌سازی مکانیزم رگزایی miR-126/Angiopoieitin-1 در بافت سرطان پستان می‌شود. این تغییرات مکانیزمی ناشی از اثر هم‌افزایی دو مداخله مذکور با هم احتمالاً منجر به مهار رشد و توسعه سلول‌های سرطان پستان می‌شود. از اینرو، به نظر می‌رسد تمرین استقامتی به همراه مکمل یاری کورکومین احتمالاً می‌تواند در کنار دیگر روش‌های درمانی به عنوان یک مداخله ترکیبی بهینه جهت کاهش رشد سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرد. هر چند در این رابطه و جهت تفسیر قاطع تاثیرات برآیندی تمرین استقامتی و کورکومین بر ریزمحیط

### References

- 1- 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: a cancer journal for clinicians. 2018 Nov;68(6):394-424.
- 2- Wu FT, Man S, Xu P, Chow A, Paez-Ribes M, Lee CR, et al. Efficacy of cotargeting angiopoietin-2 and the VEGF pathway in the adjuvant postsurgical setting for early breast, colorectal, and renal cancers. Cancer Res. 2016 Dec 1;76(23):6988-7000.
- 3- 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. 2017 Sep 1;10(9):494-506.
- 4- Gu S, Xue J, Xi Y, Tang R, Jin W, Chen JJ, et al. Evaluating the effect of Avastin on breast cancer angiogenesis using synchrotron radiation. Quant Imaging Med Surg. 2019 Mar;9(3):418.
- 5- Zhao Y, Adjei AA. Targeting angiogenesis in cancer therapy: moving beyond vascular endothelial growth factor. Oncologist. 2015 Jun;20(6):660.
- 6- Fox SB, Generali DG, Harris AL. Breast tumour angiogenesis. Breast Cancer Res. 2007 Dec;9(6):1-11.
- 7- Salinas-Vera YM, Marchat LA, Gallardo-Rincón D, Ruiz-García E, Echavarría-Zepeda R,

- López-Camarillo C. AngiomiRs: MicroRNAs driving angiogenesis in cancer. *Int J Mol Med*. 2019 Feb 1;43(2):657-70.
- 8- Sessa R, Seano G, Di Blasio L, Gagliardi PA, Isella C, Medico E, et al. The miR-126 regulates angiopoietin-1 signaling and vessel maturation by targeting p85 $\beta$ . *Biochim Biophys Acta*. 2012 Oct 1;1823(10):1925-35.
- 9- Soltani R, Gaeini A, Nuri R. The effects of 8 weeks aerobic training on HIF-1 $\alpha$ , miR-21 and VEGF gene expression in female Balb/c with breast cancer. *Yafte*. 2019;21(1). [Full text in Persian]
- 10- Delphan M, Agha Alinejad H, Delfan M, Dehghan S. Intratumoral effects of continuous endurance training and high intensity interval training on genes expression of miR-21 and bcl-2 in breast cancer bearing female mice. *Iran J Breast Dis*. 2017 Sep 10;10(2):49-57. [Full text in Persian]
- 11- Betof AS, Lascola CD, Weitzel D, Landon C, Scarbrough PM, Devi GR, et al. Modulation of murine breast tumor vascularity, hypoxia, and chemotherapeutic response by exercise. *J Natl Cancer Inst*. 2015 May 1;107(5).
- 12- Shakeri A, Ward N, Panahi Y, Sahebkar A. Anti-angiogenic activity of curcumin in cancer therapy: a narrative review. *Curr Vasc Pharmacol*. 2019 May 1;17(3):262-9.
- 13- Nagaraju GP, Benton L, Bethi SR, Shoji M, El-Rayes BF. Curcumin analogs: Their roles in pancreatic cancer growth and metastasis. *Int J Cancer*. 2019 Jul 1;145(1):10-9.
- 14- Ashcraft KA, Warner AB, Jones LW, Dewhirst MW. Exercise as adjunct therapy in cancer. In *Seminars in radiation oncology*. 2018 Oct, 29(1):16-24, New York. Elsevier, 2019.
- 15- Jensen MM, Jørgensen JT, Binderup T, Kjær A. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microCT is more accurate and reproducible than determined by 18 F-FDG-microPET or external caliper. *BMC Med Imaging*. 2008 Dec;8(1):1-9.
- 16- Mirakhori Z, Kordi MR, Alizadeh S, Anoosheh L, Amani Shalamzari S, Amini A, et al. The effect of aerobic training on plasma estradiol and mir-206 and era expression in mice with breast cancer. *Iran J Breast Dis*. 2015 Jan 10;7(4):23-32. [Full text in Persian]
- 17- Hagar A, Wang Z, Koyama S, Serrano JA, Melo L, Vargas S, et al. Endurance training slows breast tumor growth in mice by suppressing Treg cells recruitment to tumors. *BMC cancer*. 2019 Dec;19(1):1-0.
- 18- Ahmadian M, Azizbeigi K, Delphan M, Atashak S. The effect of high intensity interval training on STAT-3 and angiopoietin-1 gene expression, and tie-2 protein in mice with breast cancer. *Iran J Breast Dis*. 2018 Jun 10;11(1):37-46. [Full text in Persian]
- 19- Ahmadian M, Azizbeigi K, Delfan M, Atashak S. Effects of 10 week continuous endurance training on angiopoietin-1 gene expression and the tie2 protein in mice with breast cancer. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2019 Mar 5;41(1):7-13. [Full text in Persian]
- 20- Nasiri M, Peeri M, Matinhomaei H. Endurance training attenuates angiogenesis following breast cancer by regulation of miR-126 and miR-296 in breast cancer bearing mice. *Int J Cancer Manag*. 2017 Jun 30;10(6).
- 21- Kim SW, Cha MJ, Lee SK, Song BW, Jin X, Lee JM, et al. Curcumin treatment in combination with glucose restriction inhibits intracellular alkalinization and tumor growth in hepatoma cells. *Int J Mol Sci*. 2019 Jan;20(10):2375.
- 22- Kunihiro AG, Brickey JA, Frye JB, Luis PB, Schneider C, Funk JL. Curcumin, but not curcumin-glucuronide, inhibits Smad signaling in TGF $\beta$ -dependent bone metastatic breast cancer cells and is enriched in bone compared to other tissues. *J Nutr Biochem*. 2019 Jan 1;63:150-6.
- 23- Gururaj AE, Belakavadi M, Venkatesh DA, Marmé D, Salimath BP. Molecular mechanisms of anti-angiogenic effect of curcumin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Oct 4;297(4):934-42.
- 24- Delphan M, Rashidlamir A, Delphan F. Resting plasma AgRP levels response to exercise-conjugated diet and only diet in overweight and obese sedentary females *Biol Sport*. 2012 Mar 1;29(1).
- 25- Delphan M, Rashidlamir A, Delfan F, Izadpanah N, Rahbarizade F. The effects of two weight loss protocol on resting plasma concentration of IL-6 in overweight and obese health sedentary female of college students. In *22<sup>nd</sup> International Congress on Pediatrics*. 2010 Oct 14.
- 26- Ramanathan R, Olex AL, Dozmorov M, Bear HD, Fernandez LJ, Takabe K. Angiopoietin pathway gene expression associated with poor breast cancer survival. *Breast Cancer Res Treat*. 2017

Feb 1;162(1):191-8.

27- Abdolmaleki Z, Arab HA, Amanpour S, Muhammadnejad S. Anti-angiogenic effects of ethanolic extract of *Artemisia sieberi* compared to its active substance, artemisinin. *Rev Bras Farmacogn*. 2016 Jun;26(3):326-33.

28- Dong Y, Fu C, Guan H, Zhang Z, Zhou T, Li B. Prognostic significance of miR-126 in various cancers: a meta-analysis. *Onco Targets Ther*. 2016;9:2547.