مقاله پژوهشی

بررسی برخی از MicroRNAs مرتبط با مرگ سلولی به هشت هفته تمرین مقاومتی در زنان مبتلا به سرطان پستان

محسن اکبرپور[۱]، فضل الله فتح الهی شورابه[۲*]، محمدرضا مرادپوریان[۳]، محیا حمیدی[۱]

۱. گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه قم، قم، ایران
۲. مرکز تحقیقات بهداشت تغذیه، گروه تغذیه و بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، ایران
۳. گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه آزاد واحد خرم آباد، لرستان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۳/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۸/۰۵

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان و علت اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در میان زنان است. هدف از انجام این مطالعه بررسی برخی MicroRNAs مرتبط با مرگ سلولی به هشت هفته تمرین مقاومتی در زنان مبتلا به سرطان پستان است.

مواد و روش‌ها: ۲۰ زن مبتلا به سرطان پستان انتخاب شدند که به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل (۱۰ نفر) و تجربی (۱۰ نفر) تقسیم شدند. گروه تجربی به مدت ۸ هفته و هر هفته ۳ جلسه تمرینات مقاومتی را با شدت ۵۰-۷۰٪ حداکثر یک تکرار بیشینه انجام دادند. جهت بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر متغیرهای mir-329, mir-15, mir-16 نمونه خون ۴۸ ساعت قبل و بعد از اجرایی پروتکل از آزمودنی‌ها گرفته شد. تجزیه‌وتحلیل داد-ه‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹) و آزمون‌های تی مستقل و وابسته انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج این تحقیق نشان داد هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی‌داری در سطوح mir-329,mir-15,mir-16 زنان مبتلا به سرطان پستان گردید (p=۰/۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری: هشت تمرین مقاومتی باعث افزایش برخی MicroRNAs مرتبط با مرگ سلولی در زنان مبتلا به سرطان پستان گردید که این افزایش می‌تواند منجر به افزایش مرگ سلولی و درنتیجه کاهش توده سرطان در زنان مبتلا به سرطان پستان گردد.

کلمات کلیدی: تمرین مقاومتی، MicroRNAs، سرطان پستان

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان و علت اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در میان زنان است (۱). در سال ۲۰۱۸ در سراسر جهان حدود ۲/۱ میلیون نفر مبتلا به بیماری سرطان پستان‌تشخیص داده‌شده‌اند که حدوداً از هر ۴ نفر یک نفر خانم مبتلا به سرطان پستان است. طبق آمار سال ۲۰۱۷ در ایران، سالانه ۶۱۶۰ بدخیمی پستان تشخیص داده می‌شود و ۱۰۶۳ نفر باعث مرگ می‌شوند. ایران به‌عنوان کشور درحال‌توسعه با افزایش سرطان پستان مواجه است. در ایران ۲۴/۴٪ از کل سرطان‌ها مربوط به سرطان پستان است و رتبه اول ابتلا را در بین زنان ایرانی دارد (۲). تحقیقات گسترده نشان داده است که به کمک ورزش می‌توان احتمال بروز سرطان را به‌شدت کاهش داد و در صورت ابتلا، عود مجدد را کاست. بعلاوه ورزش طول عمر بیماران مبتلا به سرطان را افزایش می‌دهد. بیش از نیمی از سرطان‌ها قابل‌درمان است (۳). ورزش منظم می‌تواند با کاهش چربی بدن و چاقی، در احتمال خطر بروز سرطان تأثیر بگذارد. چاقی عامل خطرزا برای بروز سرطان‌های خاص مثل سرطان رحم، پستان و روده بزرگ هستند. از سرطان‌های شایعی که مشخص‌شده ورزش نقش مهمی در پیشگیری از آن‌ها دارد سرطان روده بزرگ و سرطان پستان است (۴).

*نویسنده مسئول: **فضل الله فتح الهی شورابه**، مرکز تحقیقات بهداشت تغذیه، گروه تغذیه و بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، ایران Email: f.fathollahi1363@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-2135-8303

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]

مطالعات زیادی نشان داده‌اند خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان فعال در مقایسه با زنان غیرفعال کمتر است (۵). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تمرینات مقاومتی می‌تواند رشد تومور را در مراحل مختلف در مدل‌های حیوانی کاهش دهد (۶). بتوف و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که رشد تومور در موش‌های که فعالیت ورزشی انجام داده بودند، نسبت به سایر گروه‌ها تا دو برابر کمتر بود (۷). در پاسخ به تحریکات خارجی ازجمله تمرینات ورزشی، بیان ژنی به‌وسیله سازوکارهای متفاوتی مانند خاموش شدن بیان ژن توسط miRNAs می‌توانند تنظیم شوند (۸). miRNAs، RNAs غیر کدگذار کوچک هستند که بیان ژنی را از طریق جلوگیری از ترجمه آن‌ها تنظیم می‌کنند. miRNAs نقش مهمی در پاتوژنز سرطان‌ها، ازجمله سرطان پستان دارد. miRNAs از راه‌های گوناگون بر فرآیندهای بیولوژیکی تأثیر می‌گذارند، مانند تأثیر بر رشد تمایز، مرگ سلولی، بقا و متابولیسم. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که miRNAs می‌توانند سرکوبگر تومور یا آنکوژن باشند (۹). پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهند که برخی miRNAs ازجمله mir-15، mir-16(۱۰)، mir-329 (۱۱) در زنان مبتلا به سرطان پستان کاهش می‌یابد. نشان داده‌شده است که حذف miR-16 و miR-15a، تکثیر سلول‌های B انسان و موش از طریق مدولاسیون بیان ژن‌های کنترل‌کننده پیشرفت چرخه سلولی تسریع می‌کند (۱۰) در مطالعاتی دریافتند mir-15، mir-16-1 به‌عنوان یک سرکوب‌کننده تومور عمل کرده‌اند و BCL2 انکوژن به‌عنوان هدف آن است (۴). به‌طور خاص، mir-15، mir-16-1 بیان BCL2 را پایین می‌آورد که این کاهش منجر به افزایش مرگ سلولی در تومورهای سرطانی می‌گردد (۶). افزایش قابل‌توجهی در سطوح BCL2 در موارد پیشرفته تومور پستان دیده‌شده است که به‌طور معکوس بابیان miR-15a / ۱۶-۱ ارتباط دارد (و بنابراین با کاهش میزان mir-15a، mir-16-1 مرتبط است)(۶). امینی و همکاران (۱۳۹۵) در یک تحقیق، اثر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های BCL2 و miR-15a و پروتئین BCL2 بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان را بررسی کردند. نتایج حاصل از آن نشان داد که بیان ژن و پروتئین BCL2 و نسبت رشد تومور به شکل معناداری در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل کاهش‌یافته است و بیان miR-15 در گروه تمرین، افزایش معناداری را در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد. مهار تکثیر سلولی توسط خوشه mir-15a، mir-16-1 در هر دو بافت لنفوئیدی و غیر لنفوئیدی رخ می‌دهد(۶). زانگ و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که تمرینات استقامتی باعث کاهش mir-15a، mir-16-1 می‌گردد. بیشتر خوشه‌های mir-15a، mir-16-1 در سلول‌های CD بیان‌شده است. بنابراین اشاره‌ای به نقش مهم ۱۶ در هموستاز طبیعی سلول CD5+B دارد (۳). همچنین یکی دیگر از miRNAs که در سرطان پستان کاهش می‌یابد mir-329 است. لی و همکاران(۲۰۱۷) نشان دادند که mir-329 در زنان مبتلا به سرطان پستان نسبت به زنان سالم بسیار کاهش می‌یابد (۱۲). مطالعات نشان می‌دهد که mir-329 باعث کاهش تقسیم سلولی سرطانی، ترویج آپوپتوز سلولی و سرکوب تومورزایی می‌شود.همچنین نشان داده است کاهش mir-329 با متاستاز گره لنفاوی ارتباط منفی دارد (۱۱). گانگ و همکاران(۲۰۱۶) نشان داد که mir-329 به‌عنوان یک سرگوبکر جدید تومور می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد جدید درمانی استفاده کرد. Mir-329 مانع از تکثیر، مهاجرت و تهاجم سلولی می‌شود، درنتیجه سرکوب رشد تومور، با کاهش پروتئین P130Cas صورت می‌گیرد (۱۱). بیان عصبی p130Cas اثرات مهاری دو miR-15 و miR-16 در پیشرفت تومور را تضعیف می‌کند. سطوح بیان نسبت miR-362-3p / miR-329 و p130Cas بین حالت طبیعی و سرطان به‌طور معکوس ارتباط دارد؛ بیان miR-362-3p / ۳۲۹ کاهش می‌یابد، درحالی‌که P130Cas در سرطان سینه افزایش می‌یابد (۱۳). با توجه به آثار مثبت تمرینات مقاومتی بر کاهش رشد تومور، و ازآنجایی‌که تاکنون هیچ‌گونه مطالعه ورزشی بر سطوح بیان mir-329 انجام‌نشده است. این سؤال مطرح می‌شود که آیا تمرین مقاومتی می‌تواند بر یکی از نشانگرهای ویژه سرطان یعنی مرگ سلولی تأثیر داشته باشد؟ همچنین با توجه به تأثیر مشهود mir-329 بر P130Cas و تأثیر mir-15a، mir-16-1 بر BCL2 در فرآیند آپوپتوز این سؤال مطرح می‌شود که آیا تمرین هشت تمرین مقاومتی باعث افزایش بیان در برخی miRNAs مرتبط با مرگ سلولی در زنان مبتلا به سرطان پستان می‌شود؟

مواد و روش‌ها

با توجه به اینکه آزمودنی‌های تحقیق حاضر را زنان مبتلا به سرطان پستان تشکیل می‌دهند و به لحاظ برخی متغیرها کاملاً تحت کنترل نبودند، لذا تحقیق حاضر از نوع پژوهش‌های نیمه تجربی بشمار می‌رود که در قالب یک طرح پیش‌آزمون و

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]

پس‌آزمون در گروه تجربی (۱۰) و یک گروه کنترل (۱۰ نفر) اجرا شد. چارت ۱، چارت حاضر را از ابتدا تا انتهای فرایند تحقیق نشان می‌دهد.

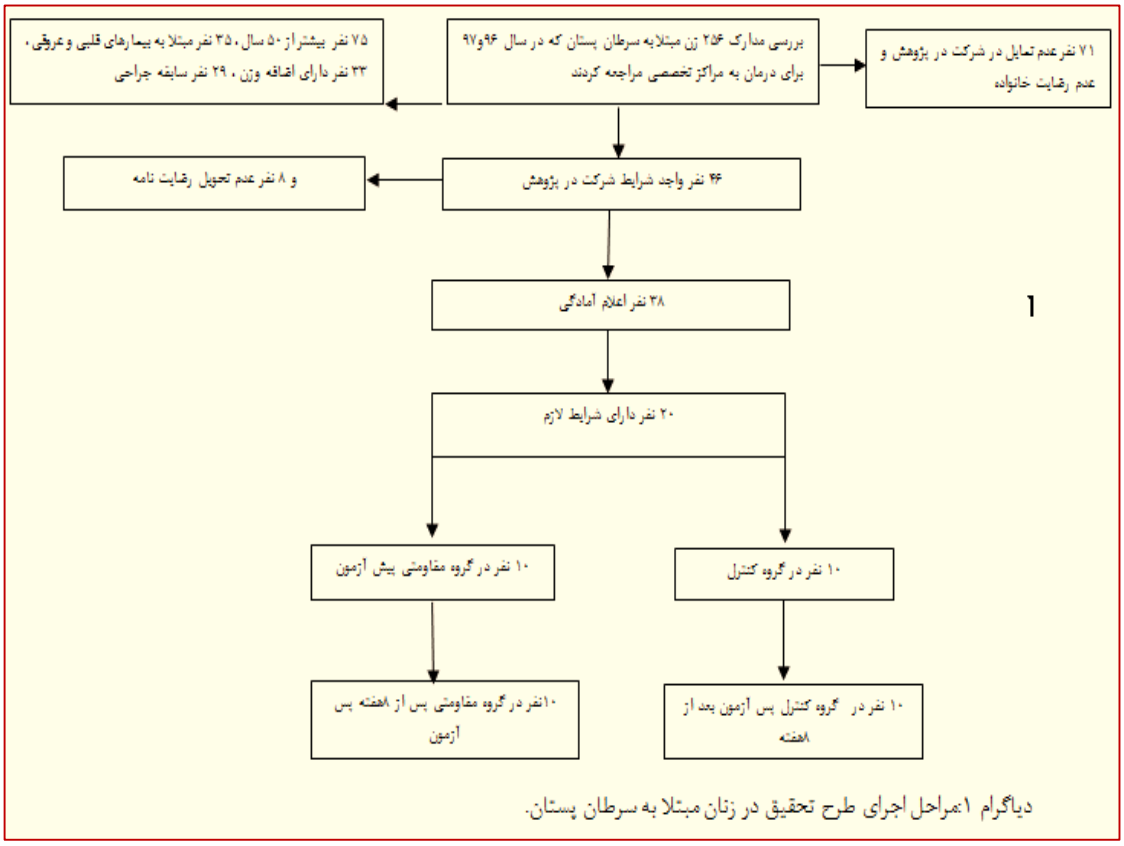
آزمودنی‌ها و نحوه انتخاب آن‌ها

آزمودنی‌های تحقیق حاضر را زنان ۳۵ تا ۵۰ ساله شهر اصفهان تشکیل می‌دادند که دارای پرونده در مراکز تخصصی شهر اصفهان بودند. برای تعیین نمونه‌های آماری این پژوهش ابتدا فهرست اسامی بیمارانی که سرطان پستان آن‌ها حداقل از ۶ ماه قبل محرز شده بود تهیه شد. نمونه‌های این تحقیق با توجه به نتایج سونوگرافی داری سرطان خوش‌خیم بودند و وارد مرحله متاستاز نشده بودند و از مراکز تخصصی و مطب‌های شخصی جمع‌آوری شدند. پس از هماهنگی و بررسی‌های اولیه، سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ نفر حائز شرایط شرکت در پژوهش (به شرح ذیل) بودند و شماره تلفن و آدرس محل سکونت آن‌ها ثبت و از آن‌ها برای حضور در این پژوهش دعوت به عمل آمد. از این تعداد ۲۰ نفر دارای معیارهای ورود به تحقیق را داشتند و داوطلبانه اعلام آمادگی جهت شرکت در تحقیق را کردند. در روز مقرر، پس از ارائه توضیحات لازم و تشریح اهداف و مراحل اجرای پژوهش، فرم رضایت از شرکت در این تحقیق توسط تمام افراد شرکت‌کننده و یکی از اعضای خانواده درجه‌یک تکمیل گردید. سپس این افراد به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل (۱۰ نفر)، گروه تمرینات مقاومتی (۱۰ نفر) تقسیم شدند.

معیارهای ورود و خروج به فرایند مطالعه

معیارهای ورود

عدم انجام پرتودرمانی، شیمی‌درمانی و آندروژن درمانی، عدم انجام هرگونه جراحی، نداشتن هرگونه بیماری قلبی، مصرف نکردن سیگار و مشروبات الکلی، نداشتن مشکل جسمانی مثل مشکلات ارتوپدی و مغزی – عصبی که مانع ورزش باشد، فشارخون < ۱۸۰/۱۱۰ به‌عنوان معیار خروج از فرایند مطالعه، عدم تمرین ورزشی مداوم قبل از شروع برنامه تمرینی، عدم متاستاز



دیاگرام ۱:مراحل اجرای طرح تحقیق در زنان مبتلا به سرطان پستان.

معیارهای خروج

افزایش فشارخون بیشتر از سه درجه در زمان استراحت که ناشی از فشار تمرینات باشد، ایجاد حالت تهوع و سرگیجه به دلیل تمرینات، ایجاد هر نوع دردی از نواحی مختلف بدن که مانع از انجام تمرینات شود، هرگونه مشکلات قلبی و تنفسی در

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]

طی مدت اجرای پروتکل، خستگی پیش از حد که موجب کبودی یا هرگونه تغیر رنگ بیمار گردد.

محدودیت‌های تحقیق

عدم کنترل دقیق تأثیر داروها بر شاخص‌های تحقیق، عدم بررسی رژیم‌های غذایی آزمودنی‌ها، عدم دسترسی به بافت سرطانی جهت بررسی‌های دقیق‌تر، سیکل قاعدگی نامنظم.

پروتکل‌های تمرین

تمرین مقاومتی شامل ۱۰ هفته تمرین و هر هفته ۳ جلسه بود. برنامه تمرین شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن با انواع حرکات کششی و نرمشی و سپس انجام هشت حرکت ایستگاهی به‌صورت دایره‌ای به مدت ۲۵ تا ۳۰ دقیقه بود. در انتها ۱۰ دقیقه سرد کردن در نظر گرفته شد. تمرین‌های مقاومتی به ترتیب شامل پرس پا، پرس سینه، حرکت پارویی، خم کردن زانوها (پشت ران) سرشانه، پشت بازو، باز کردن زانو (جلو پا) و جلو بازو بود. برنامه تمرین در هر جلسه شامل سه دور با دوازده تکرار و با شدت ۵۰ تا ۶۵ درصد یک تکرار بیشینه بود. زمان استراحت بین ایستگاه ۴۵ تا ۶۰ ثانیه و زمان استراحت بین هر دور ۹۰ ثانیه بود. اصل اضافه‌بار به‌گونه‌ای طراحی شد که بعد از هر دو هفته تمرین آزمون یک تکرار بیشینه برای هر فرد برای هر تمرین انجام شد و مقدار ۵٪ به میزان وزنه اضافه شد. برای تعیین یک تکرار بیشینه از فرمول زیر استفاده شد (۳).

$$1RM = \frac{\text{وزنهٔ جابه‌جا شده (کیلوگرم)}}{[(۰٫۰۲۷۸ \times \text{تعداد تکرار تا خستگی}) - ۱٫۰۲۷۸]}$$

خون‌گیری و اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی

خون‌گیری از آزمودنی‌های تحقیق حاضر در دو مرحله (۴۸ ساعت قبل از اولین جلسه تمرینی و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین) متعاقب ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه انجام شد. در هر مرحله ۵ میلی‌لیتر خون از ورید پیش بازویی بیماران گرفته شد. زمان نمونه‌گیری خون، خون‌ها در لوله‌های آغشته به سیترات ریخته گردید و نمونه‌ها با استفاده از شیکر کاملاً به سیترات آغشته گردند. سپس نمونه‌های خونی با دور RMP ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه برای جداسازی سرم سانتریفیوژ شدند. سپس سرم برای آنالیزهای بعدی شاخص‌های موردنظر در تحقیق در ظرف‌های ویژه اپندروف توزیع و بلافاصله در فریز ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

نحوه حذف کردن RNA از میکروتیوب‌ها و سر سمپلرها

تمامی سرسمپلرها و میکروتیوب‌ها مورداستفاده برای استخراج mircroRNAs به‌صورت overnight در محلول DEPC با غلظت یک‌دهم درصد قرار داده شد و سپس با استفاده از آون در دمای ۴۵ درجه خشک شد، سپس سپملرها و میکروتیوب‌ها دو بار منظم اتوکلاو گردیدند.

استخراج mircroRNAs گردش خون

به‌منظور استخراج میکرو RNA از کیت استخراج ایرایزول RNA تولیدشده تولید شرکت زیست فن‌آوران رنا کد دسترسی (RB1001) و طبق دستورالعمل زیر استفاده شد. همچنین جهت بررسی سطوح میکرو RNA از روش RT steam loop house keeping– استفاده گردید.

ابتدا میزان ۵۰۰ میکرولیتر از خون را به همراه با ۱ میلی‌لیتر از بافرایرایزول را با یکدیگر مخلوط به صورتی که محلول همگنی حاصل شود سپس میکس را به میکروتیوب ۲ میلی‌لیتر منتقل می‌گردد. محلول میکس در دمای محیط به مدت ۵ دقیقه ثابت قرار داده شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفورم به مجموعه اضافه گردید و به‌صورت بالا و پایین به‌شدت ۱۵-۱۰ ثانیه تکان داده و دوباره به مدت ۵ دقیقه در محیط رها شد. تیوپ حاوی میکس در سرعت ۸۰۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از اتمام این مرحله دو فاز به‌صورت مشخص قابل‌مشاهده بود، فاز شفاف رویی که حاوی RNA است را جدا، به داخل تیوپ دیگر منتقل، ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۱۰۰ درصد سرد به آن اضافه و سپس به مدت ۸ دقیقه در داخل فریزر ۲۰-قرار داده شد. در پایان تیوپ را از فریزر خارج و شبیه مرحله‌ی قبل سانتریفیوژ گردید، مایع داخل تیوپ پس از سانتریفیوژ دور ریخته شد. در این مرحله گاها ولی نه معمولاً لکه‌های بی‌رنگ و یا مایل به سفید در بدنه و کف تیوپ مشاهده گردید. سانتریفیوژ با اضافه کردن اتانول ۸۰٪ جهت شستشو تکرار شد و پس از خارج کردن اتانول و خشک‌کردن (محتوای داخل تیوپ) در این مرحله روش air-dry مورداستفاده قرار گرفت ۵۰-۲۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر بسته به میزان رسوب به آن اضافه و با پیپت RNA داخل تیوپ حل شد.

سپس ۵ ماکرولیتر از آن به‌منظور تائید کیفیت با استفاده از الکتروفروز بر روی ژل آگارز یک درصد آنالیز شد تا پس از تائید از آن در سنتز cDNA استفاده گردد. جهت DNA زدایی از محصول RNA استخراجی به کمک DNaseI رشته‌های DNA

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]

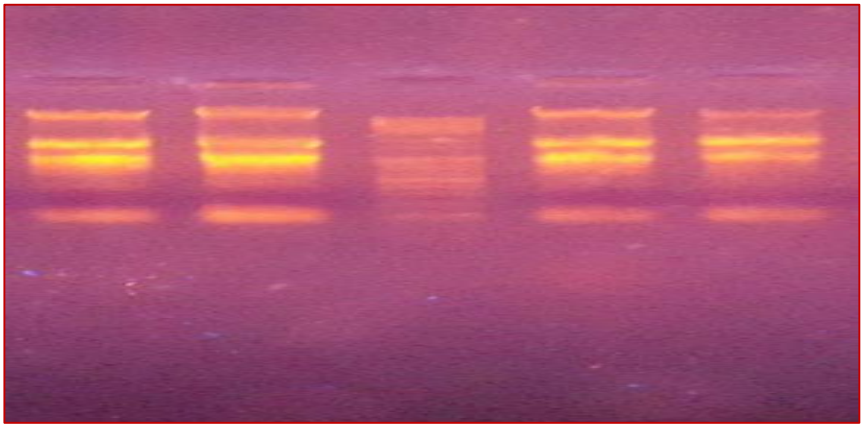
حذف شد. بدین منظور پس از افزودن آنزیم DNase، مخلوط واکنش در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ۳۰ دما دهی شد. جهت تائید کیفیت RNA نمونه DNA زدایی شده از RNA کل روی ژل ۱ درصد آگاروز آنالیز شد، شکل ۱ بیان RNA را نشان می‌دهد.

سنتز miRNA

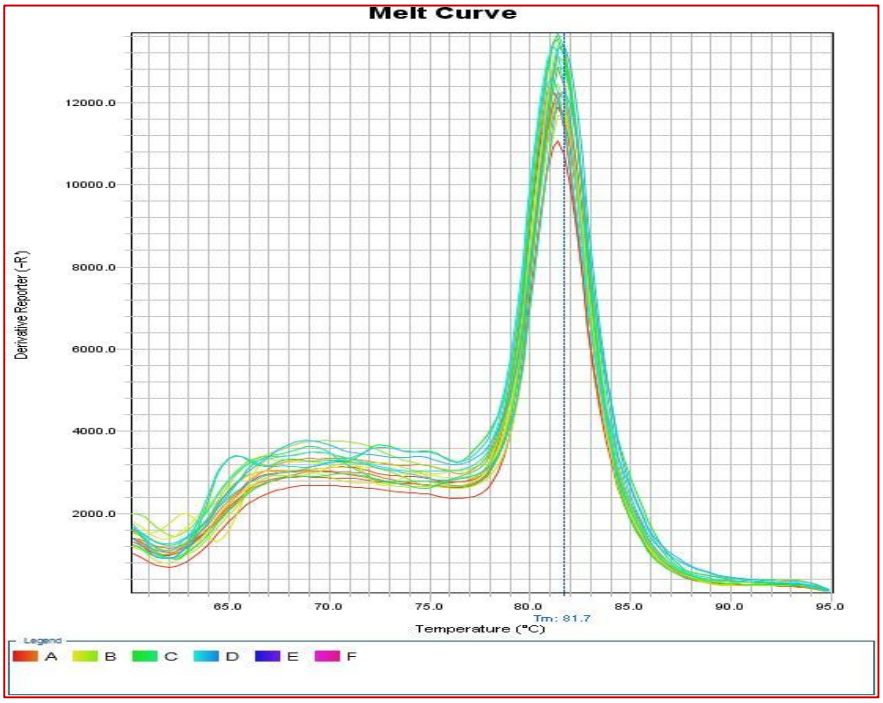
مطابق جدول (۱)، سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA زیست فن‌آوران رنا انجام گرفت. تمامی مواد از شرکت زیست فن‌آوران رنا تهیه گردید. پس از اتمام فرایند و به دست آمدن چرخه‌های آستانه (ct) سنجش بیان متغیرهای موردنظر با استفاده از محاسبه ریاضیاتی صورت گرفت. ΔCt هر نمونه با استفاده از کنترل داخلی،(miR-139-5p) و miRNA) محاسبه شد (با تفریق Ctها از کنترل داخلی)(۱۴). سپس ΔΔCt مربوطه برای هر نمونه با کم کردن ΔCt آن نمونه از میانگین ΔCt گروه کنترل محاسبه شد. درنهایت از رابطه ریاضیاتی جهت گزارش تغییرات بیان کمی متغیرها استفاده شد.

روش‌های آماری

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از SPSS ویرایش ۱۹ انجام گردید. برای توصیف داده‌ها از شاخص‌های توصیف مرکزی و پراکندگی و برای اثر معنی‌داری از آمار استنباطی استفاده گردید.



شکل ۱- RNA کل استخراج‌شده و DNA زدایی شده جهت سنتز cDNA



نمودار ۱- ذوب Real time- PCR

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]

برای این منظور، ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف نحوه توزیع داده‌ها بررسی شد. با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون t مستقل و وابسته به ترتیب جهت بررسی تفاوت‌های بین گروهی و درون‌گروهی مقادیر متغیرهای وابسته استفاده شد. در این روندها مقدار P برابر یا کمتر از ۰/۰۵ به معنی رد فرض صفر است، ویژگی‌های توصیفی در جدول ۲ بیان‌شده است.

نتایج

در بررسی درون‌گروهی، بین سطوح mir-15a, mir16-1, mir-329 در گروه تجربی قبل و بعد از اجرایی هشت هفته تمرین مقاومتی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد، ولی تغییرات گروه کنترل هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در بررسی تغییرات بین گروهی بین سطوح mir-15a, mi-r16-1, mir-329 بین دو گروه در مرحله پیش‌آزمون تفاوت معنی‌داری نداشت،

جدول ۱- توالی پرایمرهای MicroRNAs موردبررسی

توالی پرایمر از پایگاه miRBase	نام پرایمر
GAGGUUUUCUGGGUUUCUGUUUC	Mir-329
UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	Mir-16
UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUG	Mir-15
UCUACAGUGCACGUGUCUCCAGU	miR-139-5p

جدول ۲ – تغییرات وزن، قد و BMI گروه‌های مختلف تحقیق قبل و پس از ۸ هفته

	وزن		قد		BMI	
	قبل	بعد	قبل	بعد	قبل	بعد
تمرین	۶۱/۳۶ ±۴/۲۰	۶۳/۲۵ ±۶/۱۵	۱۶۳/۱۴ ±۳/۸۹	۱۶۳/۱۴ ±۳/۸۹	۲۲/۸۳ ±۲/۱	۲۳/۴۴ ±۲/۳۳
کنترل	۵۹/۳۵ ±۳/۴۴	۵۹/۷۷ ±۳/۱۸	۱۵۹/۵۷ ±۷/۱۱	۱۵۹/۵۷ ±۷/۱۱	۲۱/۷۷ ±۳/۲۲	۲۰/۹۷ ±۳/۴۶

جدول ۳- جدول تغییرات درون‌گروهی و بین گروهی شاخص‌های خونی در دو گروه قبل و بعد از مداخله

متغیرها	مرحله پیش‌آزمون	مرحله پس‌آزمون	تغییرات درون‌گروهی		تغییرات بین گروهی	
Mir-329			تغییرات مقدار t	سطح معنی‌داری	تغییرات مقدار t	سطح معنی‌داری
گروه کنترل	۱/۷۷±۰/۶۹	۱/۸۴±۱/۱	۲/۳۳	۰/۸۵۷	۳/۳۶	۰/۰۰۰۱
گروه تجربی	۱/۱۴±۰/۵۵	۳/۶۳±۰/۸۷	۵/۱۱	۰/۰۰۰۱		
Mir-15a						
گروه کنترل	۱/۳۹±۰/۶۳	۱/۳۷±۰/۶	۳/۱۹	۰/۷۱۱	۳/۲۵	۰/۰۰۰۱
گروه تجربی	۱/۲۷±۰/۶۷	۳/۱	۴/۴۴	۰/۰۰۰۱		
Mir-16/1						
گروه کنترل	۱/۱±۰/۲۲	۱/۱۳±۰/۳۵	۲/۹۳	۰/۶۳۴	۵/۲۱	۰/۰۰۰۱
گروه تجربی	۱/۰۸±۰/۳۶	۲/۹۳±۰/۵۵	۳/۱۳	۰/۰۰۰۱		

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]

ولی در مرحله پس‌آزمون بین دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول۳).

بحث

هدف از مطالعه حاضر، بررسی سازگاری برخی از mircroRNAs مرتبط با مرگ سلولی به هشت هفته تمرین مقاومتی در زنان مبتلا به سرطان پستان است. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش برخی mircroRNAs مرتبط با مرگ سلولی در زنان مبتلا به سرطان پستان گردید. با توجه به اختلاف بارز بین دو گروه تجربی و گروه کنترل تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی‌داری در سطوح mir-329, mir-15a, mir-16-1در زنان مبتلا به سرطان پستان گردید. نتایج این تحقیق با نتایج امینی و همکاران (۱۳۹۵) که به بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان miR-15 و BCL2 موش‌های مبتلا به سرطان سینه پرداختند، همخوانی دارد (۶). نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد هشت هفته تمرین هوازی باعث افزایش معنی‌داری در سطوح بیان miR-15 در موش‌های مبتلا به سرطان پستان شد که علت کاهش حجم تومور را در این موش‌ها افزایش miR-15 می‌دانند. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که هشت تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی‌داری در سطوح بیان miR-16-1 در زنان مبتلا به سرطان پستان گردید.

miR-15 و miR-16 باهدف قرار دادن BCL2 موجب تحریک آپوپتوز می‌شوند. بیان BCL2 به‌عنوان یک آنتی آپوپتوز در شماری از سرطان‌ها ازجمله سرطان پستان، پروستات و لنفوم افزایش می‌یابد (۱۵). میزان بیان این دو miR حدود ۶۸ درصد کاهش چشمگیری در سرطان خون دارد. میزان بیان این دو miR رابطه‌ای معکوسی با BCL2 در سلول‌های سرطانی دارد (۱۶). با توجه به اینکه تمرین مقاومتی باعث افزایش miR-15 و-miR 16در زنان مبتلا به سرطان پستان گردید و اینکه این دو miRs باعث افزایش آپوپتوز می‌گردند؛ و با توجه به اینکه آپوپتوز نقش بسیار مهمی در جلوگیری از گسترش سرطان و کاهش حجم آن دارد (۱۷) بنابراین می‌توان از تمرینات مقاومتی جهت بهبود زنان مبتلا به سرطان پستان استفاده کرد.

خزان یاخته‌ای یا آپوپتوز (Apoptosis) مرگ برنامه‌ریزی‌شده یاخته است که در چند یاخته‌ای به وقوع می‌پیوندد. پروتئین Bcl-2در غشاء میتوکندری و شبکه آندوپلاسمیک جای گرفته و می‌توانند هم نقش القای آپوپتوز و مهار آپوپتوز را ایفا می‌کنند (۱۸). برخی از اعضای این خانواده در مهار BCL2, Bcl-xl و برخی دیگر در القای آپوپتوز Bad, Bal, Bcl-xs (BAX) نقش دارند (۱۹). نسبت عوامل القاکننده و مهارکننده و توازن بین آن‌ها تعیین‌کننده‌ی مسیر آپوپتوز یا بقای سلول زنده است. پروتئین BCL2به‌عنوان یک پروتئواونکوژن در سلول‌های ژرمینال در تنظیم فرایند آپوپتوز سلولی دخالت می‌نماید. بدین‌صورت که پروتئین مذکور، به‌طورکلی در مهار آپوپتوز سلولی نقش دارد. در صورت کاهش میزان بیان ژن مربوط به پروتئین BCL2، فرایند مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول یا آپوپتوزی به‌واسطه فعال شدن سایر اونکوژن‌های از قبیل p53 شروع می‌شود (۲۰). با در نظر گرفتن نقش کاسپازها در سلول‌های مختلف، مطالعات نشان داده‌اند کهBCL2 به‌واسطه مهار سنتز و تولید کاسپازها نیز می‌تواند فرایند آپوپتوز را مهار نماید. به‌طور اختصاصی‌تر پروتئین‌های Bcl-2 موجود در دیواره میتوکندری‌ها به‌واسطه‌ی جلوگیری از رها شدن سیتوکروم C و یا بااتصال به Apaf-1مانع از تشکیل آپوپتوزوم و به راه افتادن آبشار کاسپازی می‌شود (۲۱). شهامت و همکاران (۱۳۹۷) نشان داد که تمرین تداومی هوازی باعث کاهش BCL2 در موش‌های سالمند تزریق‌شده با دوکسوروبیسین گردید. ازآنجایی‌که دوکسوروبیسین ازجمله روش‌های کاربردی شیمی‌درمانی است و تحقیقات نشان می‌دهد که افراد حین شیمی‌درمانی با دوکسوروبیسین با سایر بافت‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد و باعث افزایش BCL2 می‌گردد که تمرین هوازی تداومی باعث کاهش BCL2 در رت‌های سالمند گردید که می‌تواند به آپوپتوز سلول‌های سرطانی کمک بیشتری می‌کند (۲۲).

برنامه‌های نرم‌افزاری جدید که در ارتباط با تأثیر miRs بر پروتئین‌های هدف است بیانگر این است که در میان miRs بالاترین رتبه از جهت تأثیر بر BCL2 را miR-15 و miR-16 داند. همچنین miR-15 سرکوب‌کننده طبیعی BCL2به شمار می‌رود که می‌تواند به‌عنوان درمان‌های تومورهایی استفاده شود که با بیش بیانی BCL2 همراه هستند (۱۵). این داده‌ها این فرضیه را پررنگ می‌کند که miR-15 مانند سرکوبگر تومور عمل می‌کند. miR-15 در اهداف ژنی گوناگونی که در تکثیر و بقا سلول نقش دارد ازجمله (CCDN1)، ام.ار.ان. ای.ونت سه ای (WNTamRNA)، ژن کدکننده سایکلین ای یک (CCNE1) و BCL2دخالت دارد (۱۶). تمرین ورزشی ازجمله تمرین مقاومتی از طریق افزایش miR-15 که بااتصال به جایگاه هدف

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]

خود در منطقه ترجمه نشده ۳ (3-UTR) CCNE1 موجب تنظیم کاهشی CCNE1 در سطح mRNA و پروتئین آن در سلول‌های سرطان پستان می‌شوند منجر به مهار رشد سلولی، سرکوب مهاجرت و توقف چرخه سلولی می‌گردد (۲۳).

نتایج تحقیق ما نشان داد تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی‌داری در سطوح miR-329 در زنان مبتلا به سرطان پستان شد. تا آنجا که ما بررسی کردیم، تحقیقی درزمینه تأثیر فعالیت ورزشی بر miR-329 یافت نشد؛ اما نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که سطوح miR-329 در برخی از سرطان‌ها ازجمله سرطان پروستات و سرطان پستان کاهش می‌یابد. یانگ و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند در سرطان ریه miR-329 بشدت نسبت به افراد سالم کاهش می‌یابد و می‌توان از این miR برای درمان سرطان در آینده استفاده کرد (۲۴). کانگ و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که سطح پایین miR-329 در افراد مبتلا به سرطان پستان با متاستاز، تقسیم سلولی و افزایش حجم تومور ارتباط دارد (۱۱). همچنین تنظیم منفی miR-329 باعث افزایش متاستاز سلول‌های سرطانی به گره‌های لنفاوی می‌گردد (۱۱).

miR-329 از طریق p130Cas منجر سرکوب تومور، جلوگیری از متاستاز و درنهایت مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود (۲۵). مکانیسم احتمالی اینکه تمرین مقاومتی برای زنان مبتلا به سرطان پستان مفید است این است که تمرین مقاومتی باعث متیل شدن DNA سلول‌های سرطانی و درنهایت مانع از رونویسی سلول‌ها می‌شود که منجر به مرگ سلولی می‌شود؛ بنابراین می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که تمرین مقاومتی با توجه به مکانیسم اشاره‌شده در بالا می‌تواند تأثیر بیشتری در افراد مبتلا به سرطان پستان داشته باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی تمرینات مقاومتی از طریق افزایش سطوح MicroRNAs که منجر به فعال شدن مسیرهای که باعث تحریک پروتئین‌های مرگ سلولی می‌شوند می‌تواند برای افراد مبتلا به سرطان پستان مفید باشد. البته با توجه به جدید بودن این موضوع نیاز است تا مطالعات بیشتری درزمینه تأثیر فعالیت ورزشی از نوع تمرینات مقاومتی MicroRNAs مرتبط با مسیرهای مرگ سلولی در زنان مبتلا به سرطان پستان انجام شود تا به نتیجه بهتری منجر گردد.

تشکر و قدردانی

قبل از شروع به انتخاب نمونه‌ها، طرح این تحقیق مورد تائید کمیته اخلاق زیست پزشکی دانشگاه قم به شماره IR.QOM.REC.1398.015 قرار گرفت. از تمامی زنان مبتلا به سرطان پستان که ما را در انجام دادن این تحقیق یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایم. این مقاله مستخرج از پایان‌نامه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه قم است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

References

1. Sadeghi B. Prediction of MicroRNAs (miRNAs) Targets in Breast Cancer Using Bioinformatics Methods Journal of Health and Biomedical Informatics. 2016;3(1):18-28. [In persian]
2. Farhood B, Geraily G, Alizadeh A. Incidence and Mortality of Various Cancers in Iran and Compare to Other Countries: A Review Article. Iranian journal of public health. 2018;47(3):309-16. [In persian]
3. Fathollahi Shourabeh F, Tarverdizadeh B, Keihani M. The impact of eight weeks of resistance training on some angiogenesis indicators in women with breast cancer The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility. 2017;20(3):9-17. [In Persian]
4. Schmitz KH, Holtzman J, Courneya KS, Mâsse LC, Duval S, Kane RJCE, et al. Controlled physical activity trials in cancer survivors: a systematic review and meta-analysis. 2005;14(7):1588-95.
5. Fathollahi Shoorabeh F, Tarverdyzadeh B, Aminbaksahayesh S. Effect of 8 Weeks Resistance Training on Some Antioxidant/Oxidative Indexes in Postmenopausal Women with Breast Cancer. Horizon Med Sci. 2017; 23 (4):279-283. [In Persian]
6. Amini A, Ga'ini A, Choobineh S, Kurdish M, Alizadeh S. The effect of eight weeks aerobic training on the expression of BcL2 and miR-15 genes and BcL2 protein in tumor tissue in breast cancer mice. Sports Physiology, 2017; 8 (32): 85-100..2016.896. [In Persian]

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]

7. Betof A S, Dewhirst M W, Jones L W. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression:A translational perspective. Brain, Behavior, and Immunity. 2013; 30(1): 75-87.
8. Fernandes-Silva M M, Carvalho V O, Guimarães G V, Bacal F, Bocchi E A. Physical exercise and microRNAs: New frontiers in heart failure. Arquivos Brasileiros deCardiologia. 2012; 98(5): 459-66.
9. Wei W,Yun-p. MicroRNAs in breast cancer: oncogene and tumor suppressors with clinical potential. J Zhejiang Univ Sci B. 2015; 16(1): 18–31.
10. Tahergorabi Z, Moodi M, Mesbahzadeh B. Breast Cancer: A preventable disease Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2014;21(2):126-41. [In persian]
11. H Kang, C Kim, H Lee, JG Rho, J-W Seo,et al.Downregulation of microRNA-362-3p and microRNA-329 promotes tumor progression in human breast cancer. Cell Death and Differentiation (2016) 23,484–495.
12. Pihong I,Jianda D,Xiang Z,Weijian s,he h,Tong c. expression patterns of microrna-329 and its clinical performance in diagnosis and prognosis of breast cancer. OncoTargets and Therapy 2017:10 5711–5718.
13. Zhou J, Li W, Guo J, Li G, Chen F, Zhou J. Downregulation of miR-329 promotes cell invasion by regulating BRD4 and predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Tumour Biol. 2016;37(3):3561–3569.
14. MacLellan SA, MacAulay C, Lam S, Garnis C. Pre-profiling factors influencing serum microRNA levels. Pre-profiling factors influencing serum microRNA levels. BMC Clin Pathol. 2014;21;14:27.
15. Usmani A, Shoro AA, Shirazi B, Memon Z, Hussain M. MiR-16: A novel hereditary marker in breast cancer and their offspring. J Pak Med Assoc. 2017;67(3):446-450.
16. WRenner, S Krenn-Pilko, P Eder. BCL2 genotypes and prostate cancer survival. Strahlenther Onkol. 2017; 193(6): 466–471.
17. Gustavo J.J. S Bye ,H Azzouzi, U Wisløff. MicroRNAs as Important Regulators of Exercise Adaptation. Progress in Cardiovascular Diseases. 2017; 130–151.
18. Lebedeva D, Sarkar Z, Kitada S, Dent P. Bcl-2 and Bcl-xL differentially protect human prostate cancer cells from induction of apoptosis by melanoma differentiation associated gene-7, mda-7/IL-24. J Oncogene. 2003;22, 8758–8773.
19. Yong E, Hyung K, Ahwon L, Byung J, Byung J C. BCL2 as a Subtype-Specific Prognostic Marker for Breast Cancer. J Breast Cancer. 2016; 19(3): 252–260.
20. Seong MK, Lee JY, Byeon J, Sohn YJ, Seol H, Lee JK, et al. Bcl-2 is a highly significant prognostic marker of hormone-receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2015;150:141–148.
21. Chen LY, Tsang JY, Ni YB, Chan SK, Chan KF, Zhang S, et al. Bcl2 and Ki67 refine prognostication in luminal breast cancers. Breast Cancer Res Treat. 2015;149:631–643.
22. Dadban Shahamat M, Dabidi Roshan V, Farazmandfar T. Effect of Continuous Aerobic Exercise on Bax/ Bcl-2 Ratio and Doxorubicin-induced Liver Toxicity in Aging model Rats. J Mazandaran Univ Med Sci. 2018; 28 (165):36-46. [In persian]
23. Randall F. D'Souza, Acute resistance exercise modulates microRNA expression profiles: Combined tissue and circulatory targeted analyses. PLoS One. 2017; 12(7): e0181594.
24. Yang H,QiLi, Wohua Z, Dun Y. miR-329 suppresses the growth and motility of neuroblastoma by targeting KDM1A. J FEBS.2014, 192-197.
25. Liang Wu, Fulai Pei, Xiaojuan Men, Kai Wang, and Deliang Ma. miR-329 inhibits papillary thyroid cancer progression via direct targeting WNT1. Oncol Lett. 2018; 16(3): 3561–3568.

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]

Original Article

Investigation of Some MicroRNAs Related to Cell Death to Eight-Week Resistance Training in Women with Breast Cancer

Akbarpour M[1], Fathollahi Shoorabeh F[2*], Moradpoorian M, Hamidi M[1]

1. Department of Sport Sciences Education, Faculty of Literature and Human Sciences, Qom University, Qom, Iran
2. Nutritional Health Research Center, Health and Nutritional Department, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
3. Department of Physical Eduction ,Faculty of Literature and Human Sciences of Islamic Azad University of Khorramabad , Iran

Received: 13 Jun 2019 Accepted: 27 Oct 2019

Abstract

Background & Objective: Breast cancer is the most common cancer in women and is the leading cause of death from cancer among women. The purpose of this study was to evaluate the compatibility of some of the microRNAs associated with cell death to resistance training in women with breast cancer.

Materials & Methods: Twenty women with breast cancer were selected randomly. They were randomly divided into control (10) and experimental (10 subjects) groups. Experimental group performed 3 sessions of resistance training for 8 weeks and weekly with the intensity of 70-50% had at most one maximum repetition. In order to investigate the effect of resistance training on mir-329, mir-15, mir-16, blood samples of the subjects were taken 48 hours before and after protocol implementation. Data were analyzed using SPSS software (version 19) and independent and dependent t tests were performed. P value less than 0.05 was considered significant.

Results: Eight resistance exercises have increased the number of cell deaths associated with cell death in women with breast cancer, resulting in increased cell death and, consequently, reduced cancer mass in women with breast cancer.

Conclusion: Eight resistance exercises lead to an increase in certain cell deaths associated with cell death in women with breast cancer, resulting in increased cell death and, consequently, a reduction in cancer mass in women with breast cancer.

Keywords: Resistance Exercise, MicroRNAs, Breast Cancer

***Corresponding Author: Fathollahi Shoorabeh Fatollah,** Nutritional Health Research Center, Health and Nutritional Department, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
Email: f.fathollahi1363@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-2135-8303

Journal of Fasa University of Medical Sciences 10 (2020): 2043-2052

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.1.14.4]