

## Original Article

### Effects of 10 week continuous endurance training on angiotensin-1 gene expression and the tie2 protein in mice with breast cancer

Morteza Ahmadian<sup>1</sup>, Kamal Azizbeigi<sup>2\*</sup>, Maryam Delfan<sup>3</sup>, Sirvan Atashak<sup>4</sup>

<sup>1</sup>PhD candidate in Exercise Physiology, Exercise Physiology Department, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

<sup>2</sup>Department of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

<sup>3</sup>Department of Exercise Physiology, Alzahra University, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Department of Exercise Physiology, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, Iran

\*Corresponding author; E-mail: kazizbeigi@gmail.com

Received: 22 April 2017      Accepted: 6 July 2017      First Published online: 5 March 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):7-13

#### Abstract

**Background:** Angiogenesis plays a critical role in tumor growth; on the other hand, regular exercise training plays an important role in tumor growth inhibition in breast cancer patients. Due to the key role of angiotensin-1 and tie2 protein in the angiogenesis of tumor, the aim of the present study was to investigate the effects of continuous endurance training on angiotensin-1 gene expression and the tie2 protein in mice with breast cancer.

**Methods:** Twelve BALB/c mice were cancerous (subcutaneous injection of MC4-L2 to right side), and randomly were assigned into two control without activity (n=6) and continuous endurance training (n=6) groups. Each exercise session consisted of 60 minutes of running at 60-65% VO<sub>2</sub>max intensity, which was performed five days a week for 10 weeks. 24 hours after the last training session, mice were killed and tumor tissue was separated, and then angiotensin-1 gene expression was measured by Real-Time PCR method. Also tie2 protein was measured by western blot method.

**Results:** Continuous endurance training significantly decreased angiotensin-1 gene expression (p=0.001) and protein tie2 (p=0.001) than to control group. Also, tumor size significantly was lesser in the endurance training than control group after 10 week exercise training (p=0.011).

**Conclusion:** Continuous endurance training in mice with breast cancer can inhibit some of the factors angiogenesis and indirectly have positive impact on the breast cancer inhibition, and this type of training can be used as a method therapeutic for breast cancer.

**Keyword:** Angiogenesis, Angiotensin-1, Exercise training, Tie2.

**How to cite this article:** Ahmadian M, Azizbeigi K, Delfan M, Atashak S. [Effects of 10 week continuous endurance training on angiotensin-1 gene expression and the tie2 protein in mice with breast cancer]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):7-13. Persian.

## مقاله پژوهشی

# تاثیر ده هفته تمرین تداومی استقامتی بر بیان ژن آنژیوپوئین-۱ و پروتئین tie-2 در موش های مبتلا به سرطان پستان

مرتضی احمدیان<sup>۱</sup>، کمال عزیزبگی<sup>۲\*</sup>، مریم دلفان<sup>۳</sup>، سیروان آتشک<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران  
<sup>۲</sup> گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران  
<sup>۳</sup> گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران  
<sup>۴</sup> گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران

\* نویسنده مسوول: ایمیل: kazizbeigi@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۱۴ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴  
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱):۷-۱۳

## چکیده

**زمینه:** آنژیوژنز نقشی اساسی در رشد تومور دارد، از سوی دیگر انجام تمرینات ورزشی منظم نقش مهمی در مهار رشد تومور در بیماران سرطان پستان دارد. با توجه به نقش کلیدی آنژیوپوئین-۱ و پروتئین tie-2 در آنژیوژنز تومور، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر ده هفته تمرین تداومی استقامتی بر بیان ژن آنژیوپوئین-۱ و میزان پروتئین tie2 در موش های مبتلا به سرطان پستان بود.

**روش کار:** ۱۲ سر موش آزمایشگاهی نژاد BALB/C پس از القای سرطان (تزریق MC4-L2 زیر پوستی به پهلو راست موش ها) به شکل تصادفی در گروه تمرینات تداومی استقامتی (n=۶) و گروه بدون فعالیت (n=۶) قرار داده شدند. هر جلسه تمرین شامل ۶۰ دقیقه دویدن با شدت ۶۵-۶۰ درصد  $VO_{2max}$  بود که پنج روز در هفته و به مدت ده هفته اجرا شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، حیوانات کشته شدند و بافت تومور جدا شد. سپس بیان ژن آنژیوپوئین-۱ به روش Real-Time PCR و میزان پروتئین tie2 به روش وسترن بلات اندازه گیری شد.

**یافته ها:** نتایج نشان داد تمرین تداومی استقامتی به طور معنی داری پروتئین tie2 (p= ۰/۰۰۱) و بیان ژن آنژیوپوئین ۱ (p= ۰/۰۰۱) را نسبت به گروه کنترل کاهش داد. همچنین اندازه تومور در گروه تمرینات تداومی استقامتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کوچکتر بود (p= ۰/۰۱۱).

**نتیجه گیری:** در نهایت می توان گفت تمرین تداومی استقامتی در موش های مبتلا به سرطان پستان می تواند برخی از عوامل آنژیوژنز را مهار نماید و به طور غیر مستقیم تاثیر مثبتی بر مهار سرطان پستان داشته باشد و می تواند به عنوان یک روش درمانی مورد استفاده قرار گیرد.

**کلید واژه ها:** آنژیوژنز، آنژیوپوئین-۱، تمرین ورزشی، tie-2

نحوه استناد به این مقاله: احمدیان م، عزیزبگی ک، دلفان م، آتشک س. تاثیر ده هفته تمرین تداومی استقامتی بر بیان ژن آنژیوپوئین-۱ و پروتئین tie-2 در موش های مبتلا به سرطان پستان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱):۷-۱۳

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو 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

امروزه سرطان پستان یکی از مهم ترین مشکلات بهداشتی-درمانی در میان زنان است که از تکثیر بدخیم و بی رویه سلول های اپیتلیال پوشاننده لوبول های موجود در پستان به وجود می آید (۱) به طوریکه گفته می شود این بیماری تهدید جدی برای سلامتی زنان به شمار می رود. از مهمترین عوامل در ایجاد سرطان پستان می توان سابقه خانوادگی، هورمون درمانی های پیاپی، چاقی و افزایش سن اشاره نمود. از نظر پاتولوژیکی گزارش شده است که توسعه و رشد تومور نیازمند رشد و تکثیر سلول ها می باشد (۲)، این در حالی است که تکثیر و رشد تومورها مستلزم دریافت خون کافی از طریق ایجاد پدیده آنژیوزن مداوم خواهد بود (۳). آنژیوزن به ایجاد بستر عروق موبرگی جدید گفته می شود که باعث ازدیاد و تامین خون بافت در حال رشد شده و در نتیجه موجب رشد تومور خواهد شد (۴). با وجود این در سطح ملکولی، آنژیوزن فرایند چند مرحله ای پیچیده ای است که توسط مسیرهای سیگنالینگ ویژه ای تنظیم می شود و عواملی همچون فاکتور رشد اندوتلیال عروق، خانواده آنژیوپوئیتینها و فعال شدن آنزیم های متالوپروتئینازها پیش برنده آنژیوزن هستند که در مقابل عوامل مهار کننده و ازواستاتین، وازواستاتین و اندواستاتین قرار می گیرند (۴). در هر حال به نظر می رسد بر هم خوردن تعادل میان عوامل مهار کننده و پیش برنده آنژیوزن یکی از مهم ترین دلایل آنژیوزن گسترده در سلول های تومور و رشد تومور باشد (۴). عوامل زیادی مانند تمرین ورزشی و فعالیت جسمانی ممکن است بر پدیده آنژیوزن و نهایتاً رشد تومور و پیشرفت سرطانها تاثیر گذار باشند به طوریکه گزارش شده است تمرینات منظم ورزشی با کاهش هورمون های جنسی، کاهش مقاومت انسولین، شاخص های التهابی و همچنین کاهش بافت چربی خطر ابتلا به سرطان را کاهش خواهد داد (۵و۶)، Kazemi و همکاران کاهش بیان STAT3 و پروتئین IL-6 در اثر یک دوره تمرین استقامتی در بافت تومور را گزارش کردند (۷). همچنین گزارش شده است که کاهش سایتوکاین های التهابی مانند اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۸ ناشی از اثر تمرینات استقامتی بر کاهش حجم تومور موثر است (۸و۹). از طرفی دیگر برخی از پژوهشگران از منظر دیگری تاثیر تمرینات ورزشی را بر رشد تومورها مورد بررسی قرار داده و تعادل عوامل مهار کننده و پیش برنده آنژیوزن را مورد مطالعه قرار داده اند. با وجود تمامی این پژوهش ها تاکنون مسیر سیگنالینگ آنژیوپوئیتین-۱-Tie2 کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۰). آنژیوپوئیتین-۱ یک فاکتور رشد پروتئین بوده و جزء خانواده آنژیوپوئیتین ها می باشد که باعث افزایش آنژیوزن و تشکیل عروق جدید می شوند. این خانواده چهار عضو به نام های آنژیوپوئیتین-۱، آنژیوپوئیتین-۲، آنژیوپوئیتین-۳ و آنژیوپوئیتین-۴ دارد به طوریکه آنژیوپوئیتین ۱ و ۴ برای گیرنده Tie2 که یک گیرنده تیروزین

کینازی می باشد دارای اثر آگونیست و فعال کننده می باشند (۱۱). در هر حال سیستم سیگنالینگ آنژیوپوئیتین-۱-Tie2 برای توسعه عروق و پدیده آنژیوزن ضروری است هر چند این مسیر طی تحقیقات ورزشی نیز مورد بررسی قرار نگرفته است و با وجود اهمیت این مسیر در پدیده آنژیوزن خصوصاً در موارد پاتولوژیکی مانند سرطانها هنوز تاثیر تمرینات ورزشی به ویژه تمرینات تداومی استقامتی بر میزان فعالیت این مسیر مشخص نیست و در صورتیکه بتوان از اثرات اینگونه تمرینات ورزشی در کاهش عوامل موثر بر رشد تومور از جمله پدیده آنژیوزن نتایج مطلوبی کسب شود می توان از آن حداقل در کاهش سرعت رشد تومورها سود جست. در هر حال با توجه عدم وجود پژوهش در مورد تاثیر ورزش بر آنژیوپوئیتین-۱-Tie2 به عنوان یک مکانیزم پیش برنده آنژیوزن، هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر یک دوره تمرین تداومی استقامتی بر بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ و میزان پروتئین tie2 در موشهای مبتلا به سرطان پستان بود و به این پرسش پاسخ می دهد که آیا تمرینات تداومی استقامتی در موشهای مبتلا به سرطان پستان می تواند فعالیت مسیر آنژیوپوئیتین-۱-Tie2 را کاهش دهد و همسو با آن موجب کاهش حجم تومور شود یا خیر؟

روش کار  
حیوانات

تعداد ۱۲ سر موش ماده BALB/c (۸-۶ هفته، وزن ۲۰-۱۸ گرم) بعد از تهیه از انیستیتو پاستور ایران به حیوانخانه دانشگاه تربیت مدرس انتقال شدند. حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای ۲۳-۲۵ درجه سانتیگراد؛ رطوبت ۴۰-۵۰ درصد، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲) نگهداری شدند و همگی به شکل آزادانه به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب دسترسی داشتند. کلیه اصول اخلاقی تحقیق حاضر مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران رعایت گردید.

## تزریق سلول و نحوه ایجاد تومور

سلول های MC4L2 در فلاسک T75 در محیط DMEM/F-12 با ۱۵ میلی مول بافر HEPES، گلوتامین، پنی سیلین ۱۰۰ mg/ml، استرپتومایسن ۱۰۰ mg/ml و ۱۰% FBS کشت داده شدند. پس از کشت رده سلولی MC4-L2 در محیط کشت و تهیه سوسپانسیون سلولی، تعداد یک میلیون سلول سوسپانسیون شده در بافر PBS به صورت زیر پوستی به پهلو راست موش ها تزریق شد تا پس از طی ۱۲-۸ روز تومور پستان پدیدار شود. یک هفته پس از ایجاد تومور، موش ها به شکل تصادفی در دو گروه شش تایی شامل موشهای سرطانی گروه کنترل بدون تمرین (n=۶) و گروه تمرینات تداومی استقامتی (n=۶) قرار داده شدند.

### ارزیابی توان هوازی موش ها و پروتکل تمرینات استقامتی

توان هوازی حیوانات بر روی نوارگردان و مطابق پروتکل حاضر ارزیابی گردید. به این صورت ابتدا بعد از پنج دقیقه گرم کردن بر روی نوار گردان با سرعت  $0.3 \text{ m/s}$  یا  $1/8$  متر در دقیقه، سرعت نوارگردان هر سه دقیقه یک بار به میزان  $1/8$  متر در دقیقه افزایش می یافت. حداکثر سرعت بیشینه زمانی بود که موشها حداقل  $1/3$  دقیقه نتوانند با یک سرعت ثابت بدونند یا بلافاصله پس از آن با افزایش سرعت قادر به دویدن نباشند (۱۲).

### پروتکل تمرینات استقامتی

به منظور آشناسازی حیوانات با نوارگردان، بعد از تعیین گروه ها، موش ها به مدت یک هفته با نحوه دویدن بر روی تردمیل آشنا شدند. سپس گروه تمرین استقامتی تداومی به مدت ۱۰ هفته تمرینات استقامتی را انجام دادند. هر جلسه برنامه تمرین استقامتی تداومی شامل ۷۰ دقیقه دویدن روی تردمیل بود که شامل پنج دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰-۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، سپس ۶۰ دقیقه دویدن با شدت ۶۵-۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود که نهایتاً در آخر جلسه تمرینی پنج دقیقه برنامه سرد کردن با شدت ۳۰-۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی گنجانده شده بود. لازم به توضیح است در طول دوره تمرینات گروه کنترل هیچ گونه برنامه تمرینی ورزشی نداشتند. با وجود این برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان حیوانات گروه کنترل پنج بار در هفته به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در هر جلسه بر روی نوارگردان بی حرکت قرار داده شدند. پروتکل تمرینات استقامتی تداومی در جدول ۱ ارایه شده است.

جدول ۱. پروتکل تمرینات استقامتی تداومی بر روی نوارگردان

دوره تمرین	سرعت (درصد $vo_{2max}$ )	مدت تمرین (دقیقه)	جلسه در هفته
گرم کردن	۳۰-۴۰	۵	۵
تمرین اصلی	۶۰-۶۵	۶۰	۵
سرد کردن	۳۰-۴۰	۵	۵

### اندازه گیری حجم تومور

هر هفته حجم تومور با استفاده از کالیپر دیجیتالی (Thermo Fisher Scientific, CAT NO 14-648-17, USA) در دو بعد اندازه گیری می گردید. بزرگترین بعد تومور به عنوان طول تومور و بعد دیگر (با زاویه ۹۰ درجه) به عنوان عرض تومور در نظر گرفته شده و اندازه گیری می شد. لازم به ذکر است حجم تومور با فرمول  $\pi/6 \times \text{طول} \times \text{عرض}$  (فرمول استاندارد برای محاسبه حجم تومور در مدل های موش سرطان پستان) محاسبه می گردید. نتایج بر حسب میلی متر مکعب بیان گردید (۱۳).

### هموزنایز بافت تومور

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موشها بوسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی هوش شده سپس بافت تومور بلافاصله استخراج و در نیتروژن  $-80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد منجمد نگهداری شد. در آزمایشگاه حدود ۱۰۰-۵۰ میلیگرم بافت تومور به همراه ۷۰۰ لاندا ترايزول در لوله هموزن دستی ریخته شد و بافت هموزن گردید. سپس مایع رویی برای استخراج RNA به لوله جدید منتقل شد. استخراج RNA به وسیله کیت miRNeasy Mini Kit (۵۰) و طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت. نسبت جذبی  $280/260$  نانومتر برای تمامی نمونه های استخراج شده بین  $1/8$  تا ۲ بود. سپس برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده از روش الکتروفورز و ژل آگارز یک درصد استفاده شد. قبل از سنتز cDNA برای اطمینان از عدم وجود DNA در نمونه استخراج شده DNAs treatment انجام شد. برای سنتز cDNA ژن آنژیوپوئین-۱ از کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis kit و طبق دستورالعمل کیت مذکور استفاده شد.

### Real-Time PCR و کمی سازی میزان بیان آنژیوپوئین-۱

Real-Time PCR با استفاده از دستگاه Rotor Gene 6000

(Real-Time PCR انجام شد. برنامه Real-Time برای بررسی میزان بیان آنژیوپوئین-۱ بر اساس SYBR Green Real-Time (Ampliqon, دانمارک) و شامل یک چرخه با  $95^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به دنبال آن  $40^{\circ}\text{C}$  چرخه با  $95^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد برای ۱۵ ثانیه و  $60^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد برای ۶۰ ثانیه انجام شد. تغییرات بیان در گروه تداومی استقامتی نسبت به گروه کنترل برای ژن آنژیوپوئین-۱ با ژن مرجع GAPDH، با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه شد. همچنین برای سنجش میزان پروتئین Tie-2 از روش وسترن بلات استفاده شد. برای تبدیل تصاویر وسترن بلات به داده های کمی از نرم افزار Image J استفاده شد.

### روش های آماری

ابتدا جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (K-S) استفاده گردید. بعد از مشخص شدن طبیعی بودن توزیع داده ها، جهت تعیین اختلاف میانگین متغیرهای مورد مطالعه بین دو گروه از آزمون آماری تی مستقل استفاده شد. تمامی تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت. سطح معنی داری،  $p \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

## یافته ها

نتایج نشان داد که افزایش حجم تومور (نسبت حجم تومور هفته دهم به هفته اول) در گروه تمرین تناوبی استقامتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کمتر بود ( $p=0/011$ ). به طوری که در گروه تمرینات تناوبی استقامتی نسبت هفته دهم به اول  $10/33$  برابر بود در حالی که این نسبت در گروه کنترل  $12/13$  برابر بود؛ به این معنی میزان افزایش در گروه تناوبی استقامتی تقریباً  $93\%$  بود درحالیکه در گروه کنترل  $113\%$  حجم تومور پستان افزایش یافت. همچنین نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری بین دو گروه تناوبی استقامتی و گروه کنترل در متغیر پروتئین tie2 ( $p=0/001$ ) و همچنین آنژیوپویتین ۱ ( $p=0/001$ ) بعد از ۱۰ هفته تمرینات تناوبی استقامتی وجود دارد (جدول ۲).

جدول ۲: مقادیر متغیرها در گروه تمرینات استقامتی ممتد و کنترل

گروه	پروتئین Tie-2	آنژیوپویتین ۱
استقامتی	$0/87 \pm 0/017$	$0/43 \pm 0/22$
کنترل	$1/02 \pm 0/02$	۱
P	0/001	0/001

$P \leq 0.05$  سطح معنی داری حاصل از تحلیل آزمون تی مستقل



شکل ۱: الکتروفورز ژن های tie2 و  $\beta$ -actin در گروه تمرینات تناوبی استقامتی و کنترل

## بحث

هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر ده هفته تمرین تناوبی استقامتی بر تغییرات بیان ژن آنژیوپویتین-۱ و میزان پروتئین tie2 به عنوان عوامل درگیر در آنژیوژنز در موشهای مبتلا به سرطان پستان بود. نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل که هیچگونه فعالیت بدنی نداشتند میزان پروتئین tie2 در گروه تمرین تناوبی استقامتی به طور معنی داری کاهش یافت. این بدین معنی است تمرینات تناوبی استقامتی توانسته است میزان پروتئین گیرنده tie2 را کاهش دهد و در نهایت موجب کاهش آنژیوژنز از طریق سیستم آنژیوپویتین-۱ - tie2 شود که خود از نظر بالینی حائز اهمیت است. رسپتور تیروزین کینازی Tie2 در سلولهای اندوتلیال و برخی از سلولهای خون ساز در طی رشد بیان می‌گردد (۱۴). این رسپتور برای آنژیوژنز نرمال ضروری است. این رسپتور با سه لیگاند متفاوت اتصال می‌یابد که با جایگاه‌های یکسانی بر این رسپتور بر هم کنش می‌کنند. آنژیوپویتین-۱ به عنوان لیگاند محرک باعث فسفریلاسیون رسپتور شده و تشکیل مویرگها را القا و از طریق کنش با سلولهای اندوتلیال و سلولهای پشתיبان آنها را

پایدار می‌کند. این لیگاند توسط سلولهای فیبروبلاستی و سلولهای حمایت کننده عروق همچنین توسط سلولهای سرطانی بیان می‌شود (۱۴و۱۵). در حال با آنکه آنژیوژنز یک پدیده کاملاً پیچیده است در بسیاری از سلولها رخ داده و دارای مسیرهای سیگنالینگ پیچیده است همچنین عوامل بسیاری مانند فاکتورهای رشد و گیرنده های آنها در آنژیوژنز نقش دارند (۱۶) و با وجود تحقیقات نسبتاً گسترده در زمینه تأثیر ورزش و فعالیت بدنی بر بسیاری از عوامل پیش برنده آنژیوژنز و مهار کننده آنژیوژنز، مسیرسیستم آنژیوپویتین-۱ - tie2 مورد مطالعه قرار نگرفته است. به طور مثال Kordi و همکاران در بررسی تأثیر تمرین هوازی و ایتروال شدید بر بیان ژن عامل رشد اندوتلیال عروقی در عضله نعلی رت های نر سالم گزارش دادند که هشت هفته تمرینات هوازی و ایتروال شدید به صورت ۵ روز در هفته می تواند بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروق را افزایش دهد (۱۷). هر چند گزارش شده است که تغییرات فاکتور رشد اندوتلیال عروق عامل محدود کننده آنژیوژنز می‌باشد (۱۸). با وجود این گزارش شده است که آنژیوپویتینها از جمله آنژیوپویتین-۱ اثرات فیزیولوژیکی فاکتور رشد اندوتلیال عروق را تعدیل می‌کنند (۱۹و۱۶). پس در صورتی که پذیریم فاکتور رشد اندوتلیال عروق تحت تأثیر آنژیوپویتین-۱ تعدیل می شود نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Kordi و همکاران متناقض خواهد بود. به نظر می رسد شرایط موجود موجب این اختلافات شده باشد چرا که در تحقیق حاضر آنژیوژنز در شرایط پاتولوژیکی مهار شد و این می‌تواند در جهت بهبود شرایط باشد در حالیکه در تحقیق مذکور آنژیوژنز فیزیولوژیک بوده و در جهت سازگاری در تأمین اکسیژن و مواد غذایی برای عضلات فعال می باشد (۲۰).

در پژوهش حاضر مشاهده شد آنژیوپویتین-۱ تحت تأثیر تمرینات تناوبی استقامتی قرار گرفت و به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. آنژیوپویتین-۱ به عنوان یک لیگاند برای گیرنده tie2 عمل می کند. باید اذعان کرد که تحقیقات در زمینه تغییرات بیان ژن آنژیوپویتین-۱ و همچنین پروتئین آن در نمونه‌های توموری و مبتلا به سرطان در شرایط پاتولوژیکی نسبت تمرینات ورزشی بسیار محدود بوده و تفسیر نتایج را در این زمینه مشکل می سازد. در هر حال مخالف داده های تحقیق حاضر Gustafsson و همکاران در بررسی تأثیر فعالیت بر سیستم آنژیوپویتین و فاکتور رشد اندوتلیال عروق گزارش دادند که پنج هفته تمرین به صورت چهار جلسه در هفته موجب افزایش بیان ژن آنژیوپویتین-۱ گردید (۲۱). با وجود این برخی از گزارشات بیان کرده اند که هرچند سیستم آنژیوپویتین-۱ - tie2 یک عامل پیشبرنده در وضعیت فیزیولوژیک می باشد با وجود این ممکن است در شرایط پاتولوژیک آنژیوپویتین-۱ عامل آنژیوژنز نباشد و حتی ممکن است به عنوان یک عامل مهار کننده نمایانگر شود

مقایسه با گروه کنترل بدون فعالیت می توان گفت که تمرینات تداومی استقامتی در موشهای مبتلا به سرطان پستان می تواند موجب کاهش بیان ژن آنژیوپوئین-۱ و غلظت tie2 گردد و کاهش فعالیت این سیستم نهایتاً آنژیوژنز را مهار کرده و به طور غیر مستقیم تاثیر مثبتی بر روند تغییرات تومور پستان خواهد داشت. می تواند به عنوان یک روش درمانی از این نوع تمرینات حداقل برای کاهش پیشرفت تومور پستان استفاده نمود.

### قدرانی

بدینوسیله از مسئول محترم و همچنین همکاران گرامی بخش آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه تربیت مدرس که زمینه انجام پژوهش حاضر را فراهم کردند تشکر و قدرانی می شود.

### ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر شامل ملاحظات اخلاقی نمی شود.

### منافع متقابل

مولفین هیچگونه منافع متقابلی از انتشار مقاله حاضر ندارند.

### منابع مالی

کلیه هزینه های انجام پژوهش حاضر توسط محققین تامین شده است.

### مشارکت مولفان

احمدیان م طراحی تحقیق و انجام پروتکل تمرینات ورزشی، عزیزبگی ک طراحی تحقیق و نگارش و تدوین مقاله، دلفان م طراحی تحقیق، ویرایش مقاله، انجام آنالیزهای بیوشیمیایی، آتشک س تحلیل های آماری و بررسی متون را بر عهده داشته اند. همچنین تمامی نویسندگان نسخه نهائی مقاله ارسالی به مجله را مطالعه و تایید کرده اند.

(۲۲). این مساله نشان می دهد که فرایندهای آنژیوژنز در شرایط پاتولوژیک و فیزیولوژیک کاملاً دارای مکانیزمهای متفاوت می باشند (۲۲). در همین راستا و در تناقض با نتایج تحقیق حاضر، Zheng و همکاران در بررسی تاثیر تمرینات هوازی بر میزان ریکاوری در موش های مبتلا به آسیب ناشی از ایسکمی مغزی گزارش دادند که دو هفته تمرینات هوازی به صورت ۳۰ دقیقه در روز و با شدت ۱۲ متر در دقیقه موجب افزایش بیان ژن آنژیوپوئین-۱ و tie2 گردید و این مکانیزم توانست سرعت ریکاوری را بهبود بخشد. به نظر می رسد مکانیزم اثر ورزش بر سیستم آنژیوپوئین-۱ - tie2 وابسته به نوع بافت و وضعیت سلامتی و پاتولوژیک متفاوت است و این تناقضات ناشی از همین مساله باشد (۲۳). در هر حال برای حصول اطمینان در مورد تاثیرات مثبت تمرینات تداومی استقامتی بر کاهش فرایند آنژیوژنز لازم است اشاره شود که کاهش حجم تومور در گروه تمرین تداومی استقامتی به دنبال تمرینات نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد به طوریکه مشاهده شد میزان رشد و تومور در هفته دهم نسبت به هفته اول در گروه تجربی به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل کمتر بود به طوری که در گروه تمرینات تداومی استقامتی نسبت هفته دهم به اول ۱۰/۳۳ برابر بود در حالی که این نسبت در گروه کنترل ۱۲/۱۳ برابر بود، این مساله نشان می دهد که سازو کارهایی مانند کاهش خون رسانی (مهار آنژیوژنز) به سلولهای توموری ممکن است در این امر دخیل باشند. با وجود این لازم به یادآوری است که عوامل مهارتی و پیش برنده آنژیوژنز زیاد بوده و فاکتورهای بیوشیمیایی زیادی ممکن است در این امر دخیل باشند و با این قطعیت نمی توان اختلاف حجم تومورها را صرفاً ناشی از دو متغیر تحقیق حاضر دانست و بهتر بود فاکتورهای بیوشیمیایی دیگری نیز مورد سنجش قرار می گرفت. بر همین اساس توصیه می شود که فاکتورهای بیوشیمیایی دیگر در کنار متغیرهای تحقیق حاضر با حجم نمونه های بیشتری مورد مطالعه قرار گیرد تا نتایج و همچنین مکانیزمهای درگیر در کاهش حجم تومور و پدیده آنژیوژنز شفاف تر مشخص و تفسیر گردد.

### نتیجه گیری

در یک نتیجه گیری کلی و با توجه به رشد و توسعه کمتر تومور پستان در موش های گروه تمرینات تداومی استقامتی در

### References

1. McPherson K, Steel C M. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ* 2000; **321**(7261): 624-628. doi: 10.1136/bmj.321.7261.624.
2. Hanahan D, Weinberg R A. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; **100**(1): 57-70. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
3. Thompson H J, Jiang W, Zhu Z. Candidate mechanisms accounting for effects of physical activity on breast carcinogenesis. *IUBMB Life* 2009; **61**(9): 895-901. doi: 10.1002/iub.233.
4. Mentzer S J, Konerding M A. Intussusceptive Angiogenesis: expansion and remodeling of



- microvascular networks. *Angiogenesis* 2014; **17**(3): 499-509. doi: 10.1007/s10456-014-9428-3.
5. Xi Y, Ma W H, Tian Z J. Research advance on angiogenesis in ischemic heart induced by aerobic exercise and stem cell mobilization. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan* 2014; **45**(5): 343-348. doi: 10.3724/sp.j.1206.2009.00727.
  6. Murphy E A, Davis J M, Barrilleaux T, McClellan J, Steiner J, Carmichael M. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine* 2011; **55**(2): 274-279. doi: 10.1016/j.cyto.2011.04.007.
  7. Kazemi A, Agha-Alinejad H, Alizadeh Sh, Shahbazi Sh, Amani-Shalamzari S. The Effect of Endurance Training on MiR-155 Expression, STAT3 Gene Expression, and Interleukin 6 Protein in Mice with Breast Cancer. *J Kerman Univ Med Sci* 2015; **22**(1): 53-62.
  8. Anosheh L, Kordi M R, Gaeini A, Mahdian R, Mirakhori Z, Amani Shalamzari S, et al. The effects of aerobic training on microRNA let-7a expression and levels of tumor tissue IL-6 in mice with breast cancer. *Iran J Breast Dis* 2014; **7**(3): 12-19.
  9. Agha-Alinejad H, Haftchenari S, Matin Homae H. Effect of a Period of Endurance Training on Serum IL-8 Concentration and Tumor Volume in Breast Cancer Bearing Mice. *Iran J Endocrinol Metab* 2014; **16**(1): 26-32.
  10. Bouck N, Stellmach V, Hsu SC. How tumors become antigenic. *Adv Cancer Res* 1996; **69**: 74-135. doi: 10.30699/acadpub.ijbd..11.3.32
  11. Staton C A, Hoh L, Baldwin A, Shaw L, Globe J, Cross S S, et al. Angiopoietins 1 and 2 and Tie-2 receptor expression in human ductal breast disease. *Histopathology* 2011; **59**: 256-263.
  12. Leandro C G, Levada A C, Hirabara S M, Manhaes-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* 2007; **21**(3): 751-756. doi: 10.1519/r-20155.1
  13. Jones L W, Viglianti B L, Tashjian J A, Kothadia S M, Keir S T, Freedland S J, 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. doi: 10.1152/jappphysiol.00424.2009.
  14. Plate K, Scholz S, Dumont D. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic therapy in malignant gliomas revisited. *Acta Neuropathology* 2012; **124**: 763-775. doi: 10.1007/s00401-012-1066-5.
  15. Cascone T V, Heymach J. Targeting the Angiopoietin/Tie2 Pathway: Cutting Tumor Vessels with a Double-Edged Sword. *J Clin Oncol* 2012; **30**(4): 441-444. doi: 10.1200/jco.2011.38.7621
  16. Olsson A K, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signaling—in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; **7**: 359-371.
  17. Kordi M R, Nekouei A, Shafiee A, Hadidi V. The Effect of Eight Weeks High Intensity Aerobic Continuous and Interval Training on Gene Expression of Vascular Endothelial Growth Factor In Soleus Muscle of Healthy Male Rats. *AMUJ* 2015; **18**(101): 53-62.
  18. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003; **9**: 653-660. doi: 10.1038/nm0603-653.
  19. Lobov I B, Brooks P C, Lang R A. Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 11205-11210. doi: 10.1073/pnas.172161899.
  20. Bloor C M. Angiogenesis during exercise and training. *Angiogenesis* 2005; **8**(3): 263-271. doi: 10.1007/s10456-005-9013-x.
  21. Gustafsson T, Rundqvist H, Norrbom J, Rullman E, Jansson E, Sundberg C J. The influence of physical training on the angiopoietin and VEGF-A systems in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2007; **103**(3): 1012-1020. doi: 10.1152/jappphysiol.01103.2006.
  22. Hayes A J, Huang W Q, Yu J, Maisonpierre P C, Liu A, Kern F G, et al. Expression and function of angiopoietin-1 in breast cancer. *Br J Cancer* 2000; **83**(9): 1154-1160. doi: 10.1054/bjoc.2000.1437.
  23. Zheng Q, Zhu D, Bai Y, Wu Y, Jia J, Hu Y. Exercise improves recovery after ischemic brain injury by inducing the expression of angiopoietin-1 and Tie-2 in rats. *Tohoku J Exp Med* 2011; **224**(3): 221-228. doi: 10.1620/tjem.224.221.