

مقاله اصلی

تأثیر تمرینات استقامتی، تناوبی شدید و مقاومتی با و بدون مصرف عصاره یونجه بر بیان ژن miR-126 رت‌های مبتلا به سرطان پستان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۵

خلاصه

مقدمه: سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان و علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در میان زنان است، در سال ۲۰۱۸ در سراسر جهان حدود ۱/۲ میلیون نفر مبتلا به بیماری سرطان پستان تشخیص داده شده‌اند که حدوداً از هر ۴ نفر یک نفر خانم مبتلا به سرطان پستان بود. تمرینات ورزشی با اثر گذاری بر میکرو RNA ها می‌تواند اثرات متفاوتی بر کنترل بیماری سرطان داشته باشند.

روش کار: جامعه آماری تحقیق حاضر را کلیه موش‌های ماده نژاد بلب سی مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تشکیل می‌دهند که از بین جامعه آماری ۹۰ سر موش ماده نژاد بلب سی ۱۰ هفته‌ای با وزن 17 ± 2 گرم خریداری شد. برنامه تمرینی هوازی، تناوبی و مقاومتی برای مدت ۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه در هفته با افزایش تدریجی شدت و مدت انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های شاپیروویلیک، لوین، تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تقییبی توکی استفاده گردید. مصرف روزانه ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره گیاه یونجه که از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۲ هفته انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد میزان mir126 در همه گروه‌های تمرینی با و بدون مصرف عصاره یونجه افزایشی بود ولی این میزان در گروه‌های تمرینی استقامتی با و بدون مصرف عصاره یونجه نسبت به دیگر گروه‌ها معنادار تر بود.

نتیجه گیری: پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات ورزشی همراه با مصرف یونجه می‌تواند با افزایش میکرو RNA ها نقش بسیار مهمی در تعدیل و کنترل شرایط بیماری سرطان پستان داشته باشد.

کلمات کلیدی

تمرینات استقامتی، تمرینات تناوبی، تمرینات مقاومتی، سرطان پستان، میکرو RNA
بی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

سعید تختی^۱

عبدالعلی بنائی فر^{۲*}

مجتبی ایزدی^۳

سجاد ارشدی^۴

حمید طباطبائی^۵

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

^۲ دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

^۳ استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران.

^۴ دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

^۵ استادیار آسیب شناسی ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: عبدالعلی بنائی فر، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی

Email: banaeifar@azad.ac.ir

مقدمه

سلول‌های B انسان و موش از طریق مدولاسیون بیان ژن‌های کنترل‌کننده پیشرفت چرخه سلولی را تسریع می‌کند (۹). علاوه بر تمرینات ورزشی، مصرف گیاهان دارویی که در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است در کنار تمرینات ورزشی می‌تواند به اثرات بیشتر تمرینات ورزشی منجر شود. گیاهان دارویی به دلیل این منشاء طبیعی دارند، خالی از عوارض بوده و در صورت داشتن اثرات مطلوب معنادار، می‌توانند مکمل‌های خوبی جهت مصرف در کنار تمرینات ورزشی باشند. یکی از گیاهانی که کمتر مورد بررسی قرار گرفته است، یونجه می‌باشد. یونجه یکی از مشهورترین گیاهان سنتی دارویی است که سرشار از ویتامین‌های A، C، E و K و اسیدهای آمینه است (۱۰). این گیاه، دارای اثرات آنتی‌باکتریال، بندآورنده‌ی خون و ضد التهاب است که در نواحی جنوبی ایران، کوه دنا، آذربایجان، کوه الوند و نواحی دیگر یافت می‌شود (۱۱). با توجه به اثرات احتمالی تمرین و مصرف یونجه در پژوهش حاضر به دنبال این هدف می‌باشد که آیا این دو متغیر می‌توانند بر شاخص‌های میکرو RNA اثرگذار باشند یا خیر.

روش کار

پژوهش حاضر روی نمونه‌های حیوانی و در آزمایشگاه انجام شد، بنابراین پژوهش حاضر از نوع تجربی و با توجه به اینکه به دنبال ارائه دادن یک راه حل مناسب در جهت بهبود سلامت است، از نوع بنیادی می‌باشد. جامعه آماری تحقیق حاضر را کلیه موش‌های ماده نژاد بالب سی مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تشکیل می‌دهند که از بین جامعه آماری ۹۰ سر موش ماده نژاد بالب سی ۱۰ هفته‌ای با وزن 17 ± 2 گرم (در ابتدا) خریداری شد و در ۹ گروه تمرینات استقامتی، تناوبی و مقاومتی با و بدون عصاره یونجه و همچنین گروه‌های کنترل سالم و سرطانی تقسیم شدند.

سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان و علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در میان زنان است (۱). در سال ۲۰۱۸ در سراسر جهان حدود $1/2$ میلیون نفر مبتلا به بیماری سرطان پستان تشخیص داده شده‌اند که حدوداً از هر ۴ نفر یک نفر خانم مبتلا به سرطان پستان بود. طبق آمار سال ۲۰۱۷ در ایران، سالانه ۶۱۶۰ بدخیمی پستان تشخیص داده می‌شود و ۱۰۶۳ نفر باعث مرگ می‌شوند. ایران به عنوان یک کشور در حال توسعه با افزایش سرطان پستان مواجه است. در ایران $24/4\%$ از کل سرطان‌ها مربوط به سرطان پستان است و رتبه‌ی اول ابتلا را در بین زنان ایرانی دارد (۲). تحقیقات گسترده نشان داده است که به کمک ورزش می‌توان احتمال بروز سرطان را به شدت کاهش داد و در صورت ابتلا، عود مجدد را کاست. بعلاوه ورزش طول عمر بیماران مبتلا به سرطان را افزایش می‌دهد. مطالعات زیادی نشان داده‌اند خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان فعال در مقایسه با زنان غیرفعال کمتر است (۳). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی می‌تواند رشد تومور را در مراحل مختلف در مدل‌های حیوانی کاهش دهد (۴). گزارش شده که رشد تومور در موش‌هایی که فعالیت ورزشی انجام داده بودند، نسبت به سایر گروه‌ها تا دو برابر کمتر بود (۵). در پاسخ به تحریکات خارجی از جمله تمرینات ورزشی، بیان ژنی به وسیله‌ی سازوکارهای متفاوتی مانند خاموش شدن بیان ژن توسط miRNAs می‌تواند تنظیم شوند (۶). miRNAs غیر کدگذار کوچک هستند که بیان ژنی را از طریق جلوگیری از ترجمه آنها تنظیم می‌کنند. miRNAs نقش مهمی در پاتوژنز سرطان‌ها، از جمله سرطان پستان دارند. miRNAs از راه‌های گوناگون بر فرایندهای بیولوژیکی تاثیر می‌گذارند، مانند تاثیر بر رشد تمایز، مرگ سلولی، بقا و متابولیسم. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که miRNAs می‌توانند سرکوبگر تومور یا آنکوژن باشند (۷). پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهند که برخی miRNAs از جمله mi-126، در زنان مبتلا به سرطان پستان کاهش می‌یابد. نشان داده شده است که حذف mi-126 تکثیر

به منظور استخراج RNAs کوچک و mirRNAs انکوبه نمودن در دمای ۸۰- درجه به مدت یک شبانه روز انجام شد. برای سنتز cDNA مربوط به mirRNAs از کیت های استراتاژان (Stratagene Kit) استفاده گردید. برای اندازه گیری متغیرهای تحقیق از روش Real Time PCR استفاده شد. مصرف یونجه نیز برای گروه های سوم، هفتم، هشتم و نهم نیز به صورت مصرف روزانه ۰/۱ میلی لیتر عصاره گیاه یونجه است که از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۲ هفته انجام شد.

برنامه تمرینی هوازی برای مدت ۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه در هفته با افزایش تدریجی سرعت (۱۸ الی ۲۶ متر بر دقیقه) و زمان (۱۰ الی ۵۵ دقیقه) در قالب دویدن روی تردمیل انجام گرفت (جدول ۱).

جدول ۱. برنامه تمرین هوازی

هفته اول	هر جلسه تمرینی در قالب ۱۰ دقیقه دویدن با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه
هفته های دوم و سوم	هر جلسه تمرینی در قالب ۲۰ دقیقه دویدن با سرعت ۲۰ متر بر دقیق
هفته های چهارم و پنجم	هر جلسه تمرینی در قالب ۳۰ دقیقه دویدن با سرعت ۲۲ متر بر دقیقه
هفته های ششم و هفتم	هر جلسه تمرینی در قالب ۴۰ دقیقه دویدن با سرعت ۲۲ متر بر دقیقه
هفته های هشتم و نهم	هر جلسه تمرینی در قالب ۵۰ دقیقه دویدن با سرعت ۲۴ متر بر دقیقه
هفته های دهم تا دوازدهم	هر جلسه تمرینی در قالب ۵۵ دقیقه دویدن با سرعت ۲۶ متر بر دقیقه

برنامه تمرین تناوبی شدید به مدت ۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه ۳۰ دقیقه ای در هفته در قالب دویدن روی تردمیل با تکرارهای یک دقیقه ای و استراحت فعال ۲ دقیقه ای بین هر تکرار انجام شد (جدول ۲).

جدول ۲. برنامه تمرین تناوبی

هفته اول	تکرارهای یک دقیقه ای با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه و استراحت فعال ۲ دقیقه ای با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بین تکرارها
----------	--

دمای محل نگهداری حیوانات در شرایط 23 ± 2 درجه سانتیگراد و محدوده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود و موش ها از غذای فشرده مخصوص جوندگان تغذیه شدند. موش های گروه های دوم تا نهم به روش کاشت سلولی به بیماری سرطان پستان شدند.

سلول کارسینومای مجاری پستان گیرنده استروژن مثبت (MC4L2) از مرکز ذخایر ژنتیک ایران تهیه و در فلاسک T75 در محیط DMEM/F-12 با ۱۵ میلی مول بافر HEPES، گلوتامین، پنی سیلین ۱۰۰، استرپتوماسین ۱۰۰ میکروگرم در هر میلی گرم و FBS ۱۰ درصد کشت داده شد. روند کشت بدین صورت بود که پس از پر کردن ۹۰ درصد از سطح فلاسک به وسیله سلول، مایع رویی برداشته شد و پس از شستشو با PBS در مرحله بعد با آنزیم تریپسین ۰/۰۲۵٪ از کف پلیت سلول ها جدا گشت و پس از خنثی کردن آنزیم با محیط حاوی ۱۰ درصد FBS کلیه محتویات فلاسک داخل لوله فالکون ریخته شد و در دوز ۱۲۰۰ به مدت سه تا پنج دقیقه سانتریفیوژ گردید. در مرحله بعدی مایع رویی برداشته شد و پلاک سلولی داخل محیط حاوی ۱۰ درصد FBS حل گردید و سپس برای تعیین زنده ماندن و شمارش سلولی به ترتیب از تریپان بلو و لام هماسیتومتر استفاده شد. پس از کشت سلول های مورد نظر، سوسپانسیون سلولی با تراکم ۱۰۰ میلیون در هر میلی لیتر بافر PBS تهیه شد. سپس پس از بی هوشی با مقدار مناسب کتامین و زایلوزین (۱۰ به ۱ میلی گرم) یک میلیون سلول به صورت زیر جلدیه هر موش تزریق گردید. پس از پیدایش تومور و در پایان پروتکل تمرینی پس از آخرین جلسه تمرین، موش ها برای سنجش متغیرها کشته شدند. بلافاصله بافت تومور برداشته شد و قسمت مرکزی آن (قسمت نکروز) حذف گردید و قسمت رویی در نیتروژن مایع فریز و در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. سپس در آزمایشگاه حدود ۱۰۰-۵۰ میلی گرم بافت تومور به همراه یک سی سی ترايزول در لوله هموزن دستی ریخته و بافت هموزن شد و در ادامه مایع رویی برای استخراج RNA به لوله جدید منتقل شد. برای استخراج RNA تام، مراحل استخراج بر اساس استفاده از ترايزول اجرا شد و سپس

وزنه معادل ۱۳۵ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه	هفته هشتم
وزنه معادل ۱۵۰ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه	هفته نهم
وزنه معادل ۱۶۵ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه	هفته دهم
وزنه معادل ۱۸۰ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه	هفته یازدهم
وزنه معادل ۲۰۰ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه	هفته دوازدهم

بعد از اتمام پژوهش تمامی موش‌ها کشته شدند و تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی برای بدست آمدن دیتا انجام شد و بیان ژن از طریق روش RT-Real time PCR اندازه گیری شد.

روش‌های تجزیه و تحلیل اطلاعات

برای توصیف داده‌ها از شاخص‌های گرایش مرکزی (میانگین)، پراکندگی (انحراف استاندارد) و ترسیم نمودارهای آماری استفاده شد. همچنین برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و برای بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها از آزمون‌های تحلیل واریانس یک طرفه، در ادامه به منظور بررسی دو به دو گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) با نرم‌افزار SPSS/27 استفاده شد. برای آزمون فرضیه‌های تحقیق نیز سطح معنی‌داری ($p \leq 0.05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه (One Way ANOVA) نشان داد که تغییرات شاخص *Mir126* بین گروه‌ها معنی‌دار است در نتیجه فرض صفر رد می‌شود ($P \leq 0.05$)، بنابراین با توجه به نتایج این آزمون در ادامه برای بررسی دو به دو گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد که نتایج آن را در جدول ۴ مشاهده می‌کنید.

تکرارهای یک دقیقه ای با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و استراحت فعال ۲ دقیقه ای با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه	هفته دوم و سوم
تکرارهای یک دقیقه ای با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه و استراحت فعال ۲ دقیقه ای با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه	هفته چهارم و پنجم
تکرارهای یک دقیقه ای با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه و استراحت فعال ۲ دقیقه ای با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه	هفته ششم و هفتم
تکرارهای یک دقیقه ای با سرعت ۳۳ متر بر دقیقه و استراحت فعال ۲ دقیقه ای با سرعت ۱۴ متر بر دقیقه	هفته هشتم و نهم
تکرارهای یک دقیقه ای با سرعت ۳۶ متر بر دقیقه و استراحت فعال ۲ دقیقه ای با سرعت ۱۴ متر بر دقیقه	هفته دهم تا دوازدهم

برنامه تمرینی مقاومتی برای مدت ۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه در هفته با افزایش تدریجی بار اضافه (۳۰ الی ۲۰۰ درصد وزن بدن) در قالب بالا رفتن از نردبان ۱ متری با ۲۶ پله (فاصله میله‌ها ۲ سانتیمتر) و شیب ۸۵ درصد بصورتی که وزنه به دم موش (۱ تا ۲ سانتیمتر پایینتر از محل رویش مو) متصل است انجام گرفت (جدول ۳).

جدول ۳. برنامه تمرین مقاومتی

هفته اول	وزنه معادل ۳۰ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه
هفته دوم	وزنه معادل ۴۵ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه
هفته سوم	وزنه معادل ۶۰ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه
هفته چهارم	وزنه معادل ۷۵ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه
هفته پنجم	وزنه معادل ۹۰ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه
هفته ششم	وزنه معادل ۱۰۵ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه
هفته هفتم	وزنه معادل ۱۲۰ درصد وزن بدن با تعداد تکرار ۱۲ در هر جلسه

- گروه سرطانی با تمرین مقاومتی نسبت به گروه سرطانی با تمرین مقاومتی با یونجه غیر معنادار و نسبت به دیگر گروه ها معنادار می باشد.

- گروه سرطانی تمرین استقامتی با یونجه نسبت به دو گروه سرطانی با تمرین مقاومتی با یونجه و گروه سرطانی تمرین استقامتی غیر معنادار و نسبت به دیگر گروه ها معنادار می باشد.

- گروه سرطانی تمرین اینتروال بیشینه همراه با یونجه نسبت به همه گروه ها به جز گروه سرطانی تمرین اینتروال بیشینه بدون یونجه معنادار می باشد.

همچنین گروه سرطانی تمرین مقاومتی همراه با یونجه نسبت به گروه های سرطانی تمرین استقامتی همراه با یونجه و گروه سرطانی تمرین استقامتی بدون یونجه و گروه سرطانی تمرین مقاومتی بدون یونجه غیر معنادار و نسبت به دیگر گروه ها معنادار می باشد (جدول ۵ و نمودار ۱). لازم به ذکر است در مقایسه های بین گروهی نشان داده شد که گروه کنترل سالم نسبت به همه گروه ها که سرطانی بودند تغییرات معنادار بود.

جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه مربوط به

Mir126		متغیر	مجموع	درجه	F	معنی -	Effect size
		مربعات آزادی	مربعات آزادی	میانگین	داری		
		۲۶/۲۵۴	۸	۳/۲۷	۵۵/۶۸۹	۰/۰۰۹*	۰/۷۶

*معنی داری در سطح $p < 0.05$

نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان می دهد که تغییرات شاخص *Mir126* به این شرح می باشد:

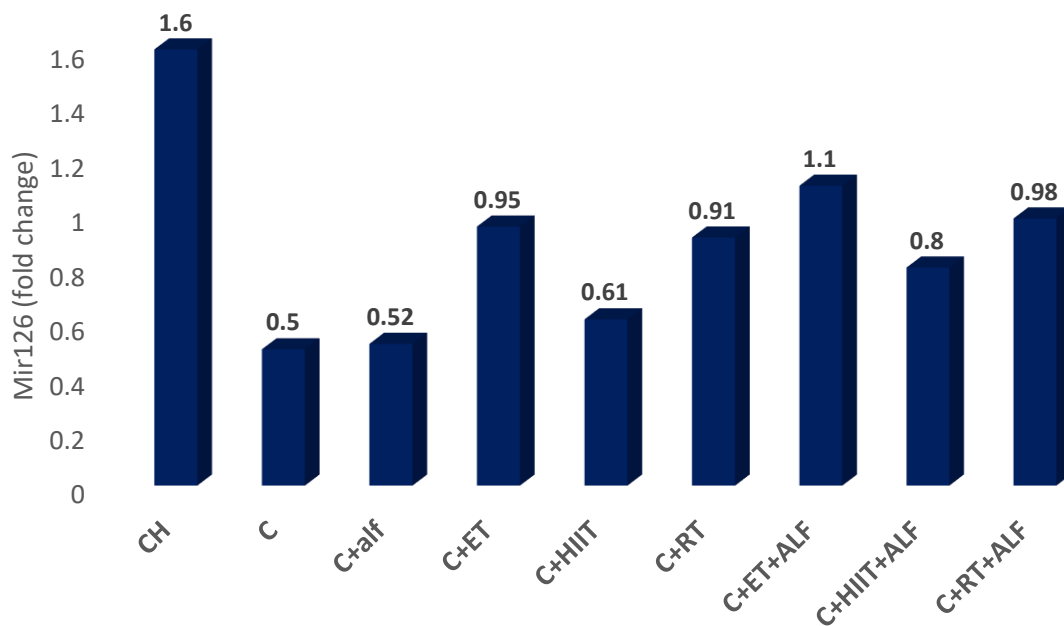
- بین گروه کنترل سرطانی و همه گروه ها به جز گروه سرطانی همراه با یونجه معنی دار است
- گروه سرطانی همراه با یونجه نسبت به همه گروه های تمرینی همراه با یونجه و بدون یونجه معنادار و نسبت به گروه کنترل سرطانی غیر معنادار است
- گروه سرطانی با تمرین استقامتی نسبت به همه گروه ها به جز گروه سرطانی تمرین مقاومتی همراه با یونجه معنادار
- گروه سرطانی با تمرین بیشینه اینتروال نسبت به گروه سرطانی همراه با تمرین استقامتی و یونجه غیر معنادار و نسبت به دیگر گروه ها معنادار است.

جدول ۵. نتایج آزمون تعقیبی توکی و مقایسه میانگین تغییرات شاخص *Mir126* در گروه های مختلف

C	C+alf	C+ET	C+HIIT	C+RT	C+ET+ALF	C+HIIT+ALF	C+RT+ALF	C
-	۰/۰۶	۰/۰۰۲	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	C
۰/۰۶	-	۰/۰۰۳	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	C+alf
۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	-	۰/۰۲۹	۰/۰۴۴	۰/۰۷	۰/۰۳۲	۰/۰۶۸	C+ET
۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۲۹	-	۰/۰۲۶	۰/۰۱۱	۰/۰۶۵	۰/۰۲۱	C+HIIT
۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۴۴	۰/۰۲۶	-	۰/۰۲۴	۰/۰۳۳	۰/۰۷۲	C+RT
<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۷	۰/۰۱۱	۰/۰۲۴	-	۰/۰۱۹	۰/۰۵۶	C+ET+ALF
<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۲	۰/۰۶۵	۰/۰۳۳	۰/۰۱۹	-	۰/۰۴۱	C+HIIT+ALF
<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۶۸	۰/۰۲۱	۰/۰۷۲	۰/۰۵۶	۰/۰۴۱	-	C+RT+ALF

C: گروه سرطان. C+alf: گروه سرطان با مصرف یونجه. C+ET: گروه سرطان با تمرین استقامتی. C+HIIT: گروه سرطان با تمرین بیشینه تناوبی. C+RT: گروه سرطان با تمرین مقاومتی. C+ET+ALF: گروه سرطان با تمرین استقامتی و مصرف یونجه. C+HIIT+ALF: گروه سرطان با تمرین بیشینه تناوبی و مصرف یونجه. C+RT+ALF: گروه سرطان با تمرین مقاومتی و مصرف یونجه

مصرف یونجه



نمودار ۱. تغییرات شاخص Mir126 در بافت سرطانی سینه

CH: گروه کنترل سالم، C: گروه سرطان، C+alf: گروه سرطان با مصرف یونجه، C+ET: گروه سرطان با تمرین استقامتی، C+HIIT: گروه سرطان با تمرین بیشینه تناوبی، C+RT: گروه سرطان با تمرین مقاومتی، C+ET+ALF: گروه سرطان با تمرین استقامتی و مصرف یونجه، C+HIIT+ALF: گروه سرطان با تمرین بیشینه تناوبی و مصرف یونجه، C+RT+ALF: گروه سرطان با تمرین مقاومتی و مصرف یونجه

در نتیجه تمرینات استقامتی همراه با مصرف یونجه مشاهده شد که می‌تواند روند خوبی بر بهبود و جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی باشد. پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی می‌توانند بیان microRNA را در مسیرهای مولکولی مرتبط با سرطان تغییر دهند، به گونه‌ای که اثرات ضدتوموری، ضدالتهابی و تنظیمی بر ایمنی سلولی داشته باشند. این اثرات هم در سطح بافت‌های توموری و هم در miRNAهای در گردش خون مشاهده شده‌اند. میکروRNAها (miRNAs) مولکول‌های کوچک RNA غیرکدکننده هستند که نقش مهمی در تنظیم بیان ژن در سطح پس از رونویسی دارند. آن‌ها می‌توانند به mRNAهای هدف متصل شده و باعث تخریب یا سرکوب ترجمه آن‌ها شوند (۱۲). پژوهش حاضر نیز نشان داد تمرینات ورزشی با و بدون مصرف مکمل یونجه اثرات افزایشی بر شاخص‌های microRNA در بافت سرطانی سینه دارد که به بعضی از دلایل فیزیولوژی و سلولی مولکولی آن اشاره می‌شود.

بحث

در پژوهش حاضر به بررسی اثر دوازده هفته تمرینات استقامتی، بیشینه تناوبی و مقاومتی با و بدون مکمل یونجه بر mir126 در رت‌های مبتلا به سرطان سینه پرداخته شد، به همین منظور نه گروه رت تقسیم بندی شد که شامل یک گروه کنترل سالم، گروه کنترل سرطانی، گروه سرطانی مصرف یونجه، سه گروه سرطانی تمرین با یونجه و سه گروه تمرینی بدون یونجه بودند. گروه‌های مورد پژوهش به مدت دوازده هفته تحت متغیرهای تمرینی و مکملی قرار گرفتند که در نهایت پس از بی‌هوشی بافت سرطانی برداشته شده و مورد تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی قرار گرفت. در پژوهش حاضر نشان داده شد که در همه گروه‌های تمرینی با و بدون یونجه تغییرات افزایشی در شاخص mir126 دیده شد. در مجموع می‌توان بیان نمود که تمرینات ورزشی همراه با یونجه نسبت به تمرینات بدون یونجه اثرات بهتری در شاخص mir126 در بافت سرطانی سینه اعمال می‌کند که بهترین اثر

در microRNA داشتند. این تغییرات با افزایش ایمنی و کاهش مارکرهای خستگی سلولی همراه بود که در نهایت گزارش دادند تمرینات هوازی موجب بهبود تنظیم ایمنی از طریق miRNAها می شود (۱۵) هوجمان و همکاران در سال ۲۰۱۸ در یک مطالعه مروری با تمرکز بر مطالعات انسانی و حیوانی گزارش دادند فعالیت بدنی شبکه‌ای از miRNAها را فعال می کند که موجب مهار مسیرهای تکثیر و القای آپوپتوز می شود که نتیجه گیری کردند ورزش در سطح اپی ژنتیک موجب تنظیم شبکه‌ی miRNA ضدسرطانی است (۱۶). در پژوهش حاضر نشان داده شد که تمرینات با یونجه بخصوص تمرینات استقامتی نسبت به گروه های بدون مصرف یونجه اثرات بهتری بر شاخص های microRNA داشته است که نشان می دهد مکمل یونجه دارای فواید مثبتی در سرکوب عوامل التهابی - سرطانی دارد. یونجه یکی از گیاهان دارویی غنی از ترکیبات فتوشیمیایی است که در سال های اخیر به عنوان مکمل طبیعی مورد توجه پژوهش ها در زمینه پیشگیری و کمک به درمان سرطان سینه قرار گرفته است.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد اثرات مثبت فعالیت بدنی بر mir126 بیش تر در تمرینات هوازی با و بدون یونجه دیده میشوند که این تغییرات در تمرینات استقامتی با یونجه بیشتر بود و تمرینات شدید یا مقاومتی ممکن است پاسخ های استرسی موقت ایجاد کنند و اثر واقعی آن ها بستگی به عوامل شدت، نوع ورزش، وضعیت ایمنی، جنس، سن و نوع سرطان دارد.

پژوهش ها درباره ی تأثیر تمرینات ورزشی بر بیان microRNA در سرطان سینه زیاد نیستند و همه ی آن ها همسو نیستند. برخی نتایج تأییدکننده ی اثرات ضدتوموری و محافظتی ورزش اند، در حالی که گروهی دیگر تفاوت هایی در نوع تمرین، شدت یا نوع سرطان را گزارش کرده اند و حتی نتایج خنثی یا متضاد داشته اند.

بعضی پژوهش ها نتایج همسو با یافته های پژوهش حاضر را گزارش داده اند. این گروه از پژوهش ها بر نقش ورزش در تنظیم بهینه miRNAها به نفع مهار سرطان، تعدیل التهاب و تقویت ایمنی تأکید دارند. در پژوهش دتلفسن و همکاران در سال ۲۰۱۷ در مدل حیوانی سرطان پستان نشان داد فعالیت ورزشی مقاومتی باعث افزایش فعالیت microRNA می شود. این miRNAها مسیر آپوپتوز (Bax/Bcl-2) را فعال می کنند و رشد سلول سرطانی را مهار کردند (۱۲). در پژوهش شین و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داده شد تمرین هوازی و مقاومتی در موش های مبتلا به سرطان پستان باعث کاهش microRNA شد؛ این miRNAها در مسیر PI3K/Akt/mTOR فعال است که نشان دهنده توقف تکثیر سلولی در نتیجه مهار Akt می باشد (۱۳). در پژوهش جونس و همکاران در سال ۲۰۱۸ که به بررسی تمرین هوازی بر مسیرهای رشد تومور سرطان سینه پرداختند نشان دادند که پس از تمرین هوازی، افزایش قابل توجه ای در microRNA گزارش شد که این افزایش باعث مهار مسیر NF-κB و کاهش التهاب سیستمیک شد (۱۴). در پژوهش سوزا و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داده شد در زنان دارای سرطان پستان پس از ۱۲ هفته تمرین هوازی تغییرات معنی دار

References

1. American cancer society: Breast Cancer. 2010. www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003037
2. Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK. Diseases of the breast. 3th edition, Lippincott Williams and Wilkins; 2004.
3. Babashah S, Sadeghizadeh M, Tavirani MR, Farivar S, Soleimani M. Aberrant microRNA expression and its implications in the pathogenesis of leukemias. Cell Oncol 2022; 35(5): 317-334.
4. Schaefer A, Jung M, Kristiansen G, Lein M, Schrader M, Miller K, et al. MicroRNAs and cancer: current state and future perspectives in urologic oncology. Urol Oncol 2020; 28(1): 4-13.
5. Liu B, Peng XC, Zheng XL, Wang J, Qin YW. MiR-126 restoration down-regulate VEGF and inhibit the growth of lung cancer cell lines in vitro and in vivo. Lung Cancer 2019; 66: 169-175.

6. Liu X, Feng J, Tang L, Liao L, Xu Q, Zhu S. The Regulation and Function of miR-21-FOXO3a-miR-34b/c Signaling in Breast Cancer. *Int J Mol Sci* 2023; 16: 3148-3162.
7. Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, [Padua D](#), [Wang Q](#), [Bos PD](#), et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature* 2008; 451(7175): 147-152.
8. Bensen JT, Tse CK, Nyante SJ, [Barnholtz-Sloan JS](#), [Cole SR](#), [Millikan RC](#). Association of germline microRNA SNPs in pre-miRNA flanking region and breast cancer risk and survival: the Carolina Breast Cancer Study. *Cancer Causes Control* 2013; 24: 1099-1109.
9. Beauchard D. Electrophoretic separation of DNA fragments. *Genome* 2010; 12: 230-255.
10. 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).
11. Kim NH, Kim HS, Li XY, Lee I, Choi HS, Kang SE, et al. A p53/miRNA-34 axis regulates Snail1-dependent cancer cell epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Biol* 2011; 195: 417-433.
12. Dethlefsen, C. "Exercise regulates breast cancer cell growth: The role of microRNAs in mediating exercise-induced anticancer effects." *Front Physiol*, 8(2017): 308.
13. Shin, K.C. et al. "Exercise suppresses tumor growth through microRNA mediated regulation of the PI3K/Akt pathway in mice." *Oncotarget*, 7(22), 2016: 33411-33425.
14. Jones, L.W. et al. "Physical activity in cancer prevention and survival: A mechanistic perspective involving microRNA modulation." *Exercise Immunol Rev*, 24(2018): 45-57.
15. Souza, T.R.C. et al. "Aerobic exercise modulates circulating microRNAs involved in inflammation and tumor progression in breast cancer survivors." *Cancer Lett*, 475(2020): 1-8.
16. Hojman, P. "Exercise as a modulator of systemic microRNA pathways: Implications for cancer prevention and therapy." *Nat Rev Cancer*, 18(8), 2018: 663-676.

Original Article

The effect of endurance training, high intensity interval training and Medicago Sativa extract on the mir126 in breast cancer rats

Received: 05/05/2025 - Accepted: 16/09/2025

Saeid Takhti¹
Abdolali Banaeifar^{2*}
Mojtaba Eizadi³
Sajad Arshadi⁴
Hamid Tabatabaey⁵

¹ PhD student in Exercise Physiology, ST.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

² Associate Professor, Department of Exercise Physiology, ST.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

³ Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Markazi, Iran.

⁴ Associate Professor, Department of Exercise Physiology, ST.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

⁵ Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, ST.C., Islamic Azad University Tehran, Iran.

*Corresponding Author: Abdolali Banaeifar, Department of Exercise Physiology, ST.C., Islamic Azad University.

Email: a_banaeifar@azad.ac.ir

Abstract

Introduction: Breast cancer is the most common cancer and the leading cause of cancer-related death among women. In 2018, about ½ million people were diagnosed with breast cancer worldwide, and about one in four women had breast cancer. Exercise training can have different effects on cancer control by affecting microRNAs.

Methods: The statistical population of the present study consisted of all female Balb C mice of the Laboratory Animal Center of Shiraz University of Medical Sciences, which were purchased from a statistical population of 90 10-week-old female Balb C mice weighing 17±2 grams. An aerobic, interval, and resistance training program was performed for 12 weeks, 5 sessions per week, with a gradual increase in intensity and duration. Shapiro-Wilk, Levine, one-way analysis of variance, and Tukey post hoc tests were used to analyze the data. Daily consumption of 0.1 ml of alfalfa extract was done via intraperitoneal injection for 12 weeks.

Results: The results showed that the level of mir126 was increased in all training groups with and without alfalfa extract consumption, but this level was more significant in the endurance training groups with and without alfalfa extract consumption than in the other groups.

Conclusion: The present study showed that exercise training combined with alfalfa consumption can play a very important role in modulating and controlling breast cancer conditions by increasing microRNAs.

Keywords: Endurance training, interval training, resistance training, breast cancer, microRNA

Acknowledgement: There is no conflict of interest