The protective effect of aerobic exercise on breast cancer by TGFβ protein and Smad-3 and MMP2 gene in female mice

Moghaddam V., PhD Stedent[1], Peeri M., PhD[2], Azarbijany M.A., PhD[3], Matin homaee H., PhD[4]

1. PhD student of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran
2. Professor of Exercise Physiology Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran (Corresponding Author), Tel:+98 21 88562484, m.peeri@iauctb.ac.ir
3. Professor of Exercise Physiology Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran
4. Associate Professor of Exercise Physiology Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background and Aim: The aim of this study was to investigate the protective effect of aerobic exercise on breast cancer by TGFβ protein and Smad-3 and MMP2 gene in female mice.

Material and method: Twenty-four female Balb/c mice were divided into control and exercise groups. Estrogen-receptor dependent breast cancer cells (MC4-L2) were injected into the subcutaneous area of the right flank of the mice. the exercise group performed endurance exercise five sessions per week at an intensity of 60% to 65% VO2max for 10 weeks. Each session lasted 60 minutes. After appearance of the tumor, the length and width of the tumor were measured by a digital caliper once a week. Finally, the mice were sacrificed, tumor tissue was removed and immediately frozen and kept at -70° C. The level of TGFβ protein was measured by western blot and expression of Smad and mmp2 genes in the samples was measured by Real Time PCR. Data were analyzed by t-test. $P<0.05$ was considered significant.

Results: The results showed that aerobic continuous training significantly increased mean expression of Smad-3 (p=0/033) and TGF-β protein mean concentration (P=0/000) in tumor tissue in the endurance group compared to those in the control group. Also, the results showed that aerobic training significantly decreased the mean expression of MMP-2 in tumor tissue in the endurance group compared to that in the control group (p=0/044).

Conclusion: According to the results, It seems that continuous aerobic training may be an effective intervention to reduce breast cancer progression.

Key words: Breast cancer, Aerobic continuous training, TGFβ, Smad, MMP2.

Received: Jul 11, 2016 **Accepted:** Apr 16, 2017

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

اثر حفاظتی تمرین هوازی بر سرطان پستان بواسطه پروتئین TGF-β و ژن Smad-3 و MMP2 در موش های ماده

وحید مقدم[۱]، مقصود پیری[۲]، محمد علی آذربایجانی[۳]، حسن متین همایی[۴]

۱.دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.

۲.استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی،تهران، ایران.،تلفن ثابت:۸۸۵۶۲۴۸۴-۰۲۱

m.peeri@iauctb.ac.ir

۳.استاد گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.

۴.دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: هدف از این تحقیق تعیین اثر حفاظتی تمرین هوازی بر سرطان پستان بواسطه پروتئین TGF-β و ژن Smad-3 و MMP2 در موش های ماده بود.

روش بررسی: تعداد ۲۴ سر موش ماده نژاد بالبسی پس از توموری شدن بوسیله رده سلولی MC4-L2 در قالب دو گروه تمرین تداومی هوازی و کنترل در شرایط استاندارد مورد مطالعه قرار گرفتند. برنامه تمرین تداومی هوازی شامل۶۰ دقیقه دویدن روی تردمیل با شدت ۶۵- ۶۰ درصد VO2max، پنج روز در هفته به مدت ۱۰ هفته بود. حجم تومور به صورت هفتگی بوسیله کولیس و با استفاده از فرمول جونز محاسبه شد. میزان پروتئینTGFβ به روش Western Blot و بیان ژن Smad و mmp2 در نمونه ها به روش Real Time PCR اندازه گیری شد. داده‌ها به روش تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد تمرین استقامتی هوازی موجب افزایش معنادار میانگین بیان Smad-3 در بافت تومور در گروه استقامتی نسبت به گروه کنترل شد (P=۰/۰۳۳). همچنین نتایج نشان داد تمرین استقامتی هوازی موجب کاهش معنادار میانگین بیان MMP-2 در بافت تومور در گروه استقامتی نسبت به گروه کنترل شد (P=۰/۰۴۴). علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد ده هفته تمرین استقامتی هوازی موجب افزایش معنادار میانگین مقادیر پروتئین TGF-β در بافت تومور نسبت به گروه کنترل شد (P=۰/۰۰۰).

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته های تحقیق حاضر به نظر می رسد، تمرین استقامتی هوازی احتمالاً می تواند مداخله موثری برای کاهش پیشروی سرطان پستان باشد.

کلمات کلیدی: سرطان پستان، تمرین تداومی هوازی، TGF-β ، Smad-3، MMP2

وصول مقاله:۹۵/۵/۲۳ اصلاحیه نهایی:۹۵/۸/۱۰ پذیرش:۹۵/۸/۱۶

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

مقدمه

سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان و دومین عامل مرگ ناشی از سرطان(بعد از سرطان ریه) در زنان محسوب می‌شود. پیشرفت سرطان به‌طور بسیار شدیدی بقاء بیمار را به خطر می اندازد و استراتژی‌های درمانی را با شکست مواجه می-کند. سلول‌های سرطانی اپیتلیال ، برای تهاجم باید به داخل بافت پایه نفوذ کنند و سد ماتریکس خارج سلولی را از بین ببرند. در این مرحله آنزیم های پروتئاز دارای نقش بسیار مهمی هستند که با هضم ماتریکس خارج سلولی و ترکیبات آن باعث تسهیل متاستاز دادن سلول‌های سرطانی به بافت های دیگر می‌شوند (۱).

مشخص شده است که سلول‌های توموری نسبت به سلول های سالم میزان پروتئاز بیشتری تولید می‌کنند و ارتباط مثبت بین میزان تهاجم سلول‌ها و سطح پروتئاز آن ها هم در مدل های تومور آزمایشگاهی و هم در تومورهای بالینی انسانی ثابت شده است. نقش کلی پروتئازها و به خصوص ماتریکس متالوپروتئینازها[1] (MMPs) در متاستاز و تهاجم سلول‌های توموری کاملاً اثبات شده و مشخص شده که این آنزیم‌ها با تسهیل شکستن اتصالات بافت پیوندی و هضم ترکیبات ماتریکس خارج سلولی به این فرآیند کمک می‌کنند(۲). ماتریکس متالوپروتئینازها خانوادهای از آنزیم‌های پروتئولیک هستند که در هضم بسیاری از ترکیبات ماتریکس خارج سلولی و بافت غشاء پایه ایفای نقش می‌کنند و از این لحاظ در فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی دارای اهمیت هستند. از بین این گروه ماتریکس متالوپروتئیناز-۲ [2](MMP2) در بسیاری از سلولهای نرمال و تغییرشکل یافته و برخی سلولهای بدخیم تولید می‌شود که روی کلاژن‌های غشای پایهٔ سلولی و کلاژن‌های دناتوره شده و ژلاتینها، فیبرونکیتن، الاستین، پروتئوگلیکان، لامینین و ...اثر می‌کند(۳). از طرفی فاکتور رشدی تغییر شکل دهنده بتا[3] (TGF-β) یکی از قوی ترین مهار کنندهای طبیعی تکثیر سلول تومور است که دارای فعالیت آنکوژنیک نیز می‌باشد. اثرات اتوکرین و پاراکرین TGF-β در سلول های تومور و محیط میکرو تومور هر دو تاثیرات مثبت و منفی بر روی توسعه سرطان را نشان می دهد. بر این اساس، مسیر سیگنالینگ TGF-β به عنوان یک مسیر سرکوبگر تومور و پروموتر پیشرفت تومور و تهاجم در نظر گرفته شده است. در سلول‌های طبیعی اپیتلیال پستان و در مراحل ابتدایی پیشرفت سرطان، TGF-β با خاصیت سرکوب کنندگی خود بر رشد تومور و از طریق مهار تکثیر سلولی به عنوان یک مهار کننده رشد عمل می-کند. اما با پیشرفت سرطان عملکرد آنکوژنیک و القا کنندگی تومور پیدا می‌کند و باعث افزایش پتانسیل تهاجم و متاستاز می‌گردد(۴). همانطور که بیان شد TGF-β یک القا کننده بالقوه و بسیار مهم در پیشرفت سرطان است، این مسیر علامت دهی، فرآیند از طریق مسیرهای وابسته به Smad و غیر وابسته به Smad القا می‌کند. گیرندهای TGF-β(TGF-βR1,R2) کینازهای دو کاره هستند که هم فعالیت تیروزین کینازی دارند و هم فعالیت ترئونین/سرین کینازی را نشان می دهند. پس از بستن کمپلکس هترودیمری گیرندهای TGF-βR1,R2 یک آبشار علامت رسانی ایجاد می‌شود که با فسفریلاسیون وسیله R2 آغاز می‌شود و موجب اتوفسفریلاسیون سرین TGF-βR1 می‌شود که در طی آن تعدادی از پروتئین-های ویژه‌ی فسفریلاسیون (به ویژه خانواده عامل‌های رونویسی Smad) فعال می‌گردند. TGF-βR1 موجب فعال شدن Smadهای ۲ و ۳ می‌شود. Smadها به یک Co-Smad به نام Smad4 متصل می‌شوند. کمپلکس-هایSmad 2/3 همراه با عامل‌های رونویسی فرعی می-توانند ژن‌های دخیل در تمایز را فعال کنند(۵). در همین راستا در تحقیقی نشان داده شده است که تمرین مقاومتی

[1] - Matrix Metalloproteinases
[2] - Metalloproteinase-2
[3] -Transforming Growth Factor β

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]
[DOI: 10.22102/22.3.60]

سطح mRNA Smad را افزایش می‌دهد. به طور کلی تحقیقات در رابطه با Smad و ارتباط آن فعالیت ورزشی در شرایط بیماری از جمله سرطان نیاز به بررسی بیشتری دارد(۶).

برخی مطالعات اثرات مثبت تمرین ورزشی در بهبود سرطان پستان را نشان دادند. در همین راستا دانلی و همکاران (۲۰۱۴) کاهش در میزان MMPها متعاقب هشت هفته فعالیت ورزشی را گزارش کردند(۷). نتایج مطالعه لیت و همکاران (۲۰۱۳) نیز افزایش MMP2 پس از ۱۲ هفته تمرین مقاومتی در موش ها را نشان داد(۸). تحقیقات اندکی در زمینه‌ی تاثیر فعالیت ورزشی بر MMP2 صورت گرفته است، همچنین تاکنون تاثیر فعالیت هوازی بر MMP2 در ازمودنی‌های مبتلا به سرطان مورد بررسی قرار نگرفته است. در همین رابطه، با توجه به نقش‌های اساسی پروتئین TGF-β در ایجاد سازگاری‌های تمرینات ورزشی، تاثیر روش‌های تمرینی مختلف بر آن مورد توجه قرار گرفته است. تحقیقات نشان دادند که مقادیر بافتی TGF-β1 در عضله دوقلو متعاقب تمرین‌تناوبی شدید در رت های نر نژاد ویستار افزایش می‌یابد(۹). همچنین فعالیت ورزشی شدید وامانده ساز سطح سرمی TGF-β را به طور قابل معنی داری افزایش می‌دهد(۱۰). با این حال، پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی تغییر معنی داری در سطح سرمی TGF-β مشاهده نشد(۱۱). در مجموع، هنوز مشخص نشده است که آیا تمرینات تداومی هوازی بر میزان پروتئین TGF-β آزمودنی‌های مبتلا به سرطان پستان تاثیر دارد. سطوح MMP2متعاقب تمرین با افزایش (۱۳و۱۲) و کاهش (۱۴) همراه بود.

با اصلاح سبک زندگی افزایش خطر بروز سرطان کاهش و همچنین وضعیت بیماران مبتلا بهبود می یابد. عوامل مختلفی از جمله فعالیت ورزشی منظم منجر به کاهش خطر بروز سرطان می‌شود. علاوه بر این، میان سبک زندگی و توسعه سرطان پستان، پروستات، مغز و کولون رابطه عکس وجود دارد (۱۶و۱۵). سبک زندگی فعال می تواند خطر پیشرفت سرطان پستان را کاهش دهد. مطالعات نشان میدهند زنان فعال ۲۰ تا ۳۰ درصد کمتر از زنان غیرفعال به سرطان پستان مبتلا می شوند(۱۷). اگر چه سازوکارهای زیادی برای توضیح این کاهش وجود دارد اما شواهد کمی برای اثبات هر کدام وجود دارد. اثر متقابل تغییرات بیان ژن عوامل ضدتوموری و آنکوژنها با فعالیت ورزشی که در سرطان پستان نقش دارند، به خوبی مشخص نشده است. مطالعات جدید اثرات مفید دویدن روی تردمیل با شدت متوسط بر جلوگیری از پیشرفت تومور را نشان دادند فعالیت بدنی وضعیت زنان مبتلا به سرطان را کاهش می‌دهد اما سازوکارهای درگیر در مدلهای حیوانی و انسانی به طور کامل شناخته نشده اند. با توجه به موارد یاد شده پژوهش حاضر تاثیر ۱۰ هفته تمرین استقامتی هوازی بر میزان پروتئین TGF-β و بیان ژن Smad و mmp2 در موش‌های مبتلا به سرطان پستان را مورد مطالعه قرارداد.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی و بنیادی است. جامعه آماری موش های ماده نژاد بالبسی (۶-۸ هفته، وزن ۱۸ تا ۲۰ گرم، تهیه شده از موسسه تحقیقات پاستور) مبتلا به تومور پستان بودند که از میان آن‌ها تعداد ۲۴ سر موش صحرایی ماده به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند. نمونه آماری این تحقیق، به روش نمونه‌گیری انتخابی هدفدار با توجه به شرایط وزنی و سنی انجام شد. سپس به صورت تصادفی ساده در دو گروه، با ۱۲ سر موش در هر گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (۱۲ سر موش) در هیچ گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند، ولی برای ایجاد شرایط کاملا یکسان پنج بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی حرکت قرار داده شدند. گروه ورزش استقامتی تداومی (۱۲ سر موش، لازم به ذکر است که یک سر موش، مداخله را به پایان نرساند) که به مدت ۱۰ هفته تمرین تداومی هوازی را انجام دادند. تمام حیوانات (غیر از مورد ذکر شده) سرعت و مدت

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

دویدن روی تردمیل را تحمل کردند و برنامه تمرین به طور کامل با موفقیت اجرا گردید (۱۸). کلیه اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی (برابر پرتکل هلیسنگی ۲۰۰۶) و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. نمونه های مورد آزمایش در طی دوره یک هفته ای آشنایی با محیط آزمایشگاهی و آشنایی با نوارگردان و همچنین مراحل اجرای پروتکل در قالب گروه های پنج سر موش در قفس های پلی کربنات شفاف، در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ ٪ و چرخه تاریکی- روشنایی ۱۲: ۱۲ ساعته نگهداری شدند. برای جذب ادرار و مدفوع نمونه ها و راحتی آن ها از تراشه و بریده‌های چوب استریل استفاده شد. هر روز نظافت قفس ها انجام شده و تراشه‌های چوب نیز تعویض می شد.

نحوه ایجاد تومور:

موشهای ماده نژاد بالبسی که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده پس از کشت رده سلولی MC4-L2 و تهیه سوسپانسیون سلولی ، تعداد یک میلیون سلول سوسپانسیون شده در بافر PBS به صورت زیر پوستی به پهلوی راست موش ها تزریق گردید تا پس از طی ۸ تا ۱۲ روز تومور پستان پدیدار شود (۱۹).

پروتکل تمرین تداومی هوازی:

هر جلسه برنامه تمرین استقامتی تداومی شامل ۷۰ دقیقه دویدن روی تردمیل بود که مراحل آن عبارتند از: مرحله گرم کردن که شامل پنج دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۳۰ درصد VO2max بود، مرحله اصلی تمرین شامل ۶۰ دقیقه دویدن با شدت ۶۵- ۶۰ درصد VO2max بود همچنین پنج دقیقه سرد کردن با شدت ۴۰ تا ۳۰ درصد VO2max در نظر گرفته شد.

مراحل نمونه گیری بافت و اندازه گیری پروتئین و بیان ژن:

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها بوسیله تزریق درون صفاقی کتامین [90 mg/kg] و زایلازین [10 mg/kg] بی هوش شده، و فدا شدند، سپس نمونه خونی، مستقیم از قلب موش‌ها جمع آوری و جداسازی سرم با سانتریفیوژ کردن در $10^{\circ}C$,3000 g 4 min انجام شد، همچنین بافت تومور بلافاصله استخراج و در نیتروژن $-80^{o}C$ منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری شد. پس از پیدایش تومور و تا پایان برنامه ی پژوهش، طول و عرض تومور برای محاسبه ی حجم تومور به صورت هفتگی با کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول محاسباتی حجم تومورمیزان آن تعیین شد(۲۰).

روش اندازگیری بیان ژن Smad و mmp2 به روش REAL TIME PCR:

۰/۷ گرم از پودر آگارز را در ۷۰ میلی‌لیتر بافر (1X) TAE به مدت ۳-۲ دقیقه در ماکروویو جوشانده می شود تا محلول کاملا یکدست و یکنواختی بدست آید. سپس ۳/۵ میکرولیترDNA safe stain قبل از بستن ژل به آن اضافه می شود و محتویات ژل در ظرف مخصوص قالب‌گیری ژل (Tray) ریخته و شانه مخصوص داخل آن قرار داده می شود و منتظر ماندیم تا ژل کاملا شکل بگیرد.

پس از تهیه ژل، در داخل تانک مخصوص الکتروفورز قرار داده می‌شود و داخل تانک، بافر(1x) TAE ریخته می شود تا جایی که روی ژل و حتی مقداری بالاتر از سطح ژل را پوشاند. در نهایت شانه را به آرامی خارج و نمونه‌ها و مارکر وزن مولکولی در محل مخصوص نمونه بارگذاری (load) شده و جریان برقرار گردید. الکتروفورز با ولتاژ ۱۲۰ به مدت ۹۰-۶۰ دقیقه انجام گرفت و درنهایت باندهای 28s و 18s در زیر نور فلورسانت با استفاده از دستگاه ژل‌داک مشاهده می شود.

سنتز cDNA برای ژن Smad و mmp2:

در این مرحله به محصول واکنش DNase Treatment که حاوی ۱۱ میکرو لیتر RNA می باشد، یک میکرو لیتر راندوم پرایمر (random primer) افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ^{o}C ۶۵ قرار گرفت. پس از اتمام زمان

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

انکوباسیون محصول واکنش بر روی یخ قرار گرفت و به هر میکروتیوپ چهار میکرولیتر 5X Reaction Buffer، ۰. ۵ میکرولیتر RiboLock Rnase Inhibitor u/µl، ۲ میکرولیتر dNTP Mix و ۰. ۵ میکرولیتر (RevertAid M-Mul Reverse Transcriptase (200 u/µl اضافه می شود و در ترمو سایکلر Corbett قرار داده می شود. دما و زمان واکنش بر اساس کیت بدین شکل بود: ۲۵^{o}C به مدت ۱۰ دقیقه، ۵۰ ^{o}C به مدت یک ساعت، ^{o}C ۸۵ به مدت پنج دقیقه و در نهایت محصول واکنش برای انجام واکنش‌های بعدی در ۸۰- ^{o}C نگهداری می شود.

ابتدا cDNA سنتز شده برای IGF-1، IGF-1R با ۴۰ میکرولیتر RNase & DNase -free water رقیق شد ۱/۵ میکرولیتر از هریک از رقت‌ها به همراه ۷/۵ میکرولیتر Master Mix تولیدی ampliqon (دانمارک) و یک میکرولیتر از پرایمرها Forward و یک میکرولیتر از پرایمر backward در چهار میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز (Nuclease –free Water) برای رسیدن به حجم نهایی ۱۵میکرولیتر به خوبی حل و مخلوط شد. تمام واکنش‌ها به شکل دوتایی (دابلیکیت) انجام شد. درنهایت میکروتیوپ‌ها در محل مخصوص خود در دستگاه قرار داده شد و واکنش-های تکثیر در طی ۴۰ سیکل بر اساس دستورالعمل سازنده کیت به شکل زیر انجام شد: ۹۵ ^{o}C به مدت ۱۵ ثانیه و ^{o}C ۶۰ به مدت ۶۰ ثانیه. لازم به ذکر است که دمای و زمان دناتوراسیون اولیه به ترتیب ۹۵ ^{o}C و ۱۰ دقیقه بود. در نهایت منحنی استاندارد و تکثیر پرایمرها توسط نرم افزار موجود در سیستم آنالیز و رسم شد. واکنش تکثیر هر یک از ژن‌های مورد نظر در مطالعه نیز، همانطورکه در بالا ذکر گردید انجام شد با این اختلاف که واکنش تکثیر فقط برای یک رقت از نمونه (رقت بهینه) الگو انجام شد. جهت بررسی تغییرات بیان ژن‌های مورد نظر نیز واکنش qRT-PCR به همان ترتیب که گفته شد انجام گرفت. برای کنترل داخلی از ژن GAPDH استفاده شد و جهت کنترل کیفی محصول واکنش GAPDH مربوط به نمونه بر روی ژل دو درصد انتقال داده شد و از نظر وجود و یا عدم وجود محصول بررسی شد(۲۱).

کمی سازی مقادیر بیان ژن هدف:

برای کمی سازی مقادیر بیان ژن مورد نظر از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ ۲ (۲ به توان منفی $\Delta\Delta ct$) استفاده شد. در این فرمول اندازه-های لازم از طریق مراحل زیر به دست آمد و در فرمول قرار داده شد و مقادیر fold change محاسبه شد.

$\Delta Ct = Ct$ ژن هدف Ct -(مرجع)

$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$ نمونه تجربی ΔCt - (نمونه کنترل)

$= 2^{-\Delta\Delta Ct}$ نسبت به گروه کنترل میزان تغییرات بیان ژن

استخراج پروتئین تام سلولی به روش Western Blot:

در این مطالعه برای بررسی میزان پروتئین TGF-β و–β Actin ابتدا پروتئین‌های تام سلول‌ها استخراج شد. سلول‌ها با مقدار تقریبی۱۰۶ × ۱۰ در هر فلاسک با سانتریفیوژ (۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه و دمای چهار درجه سانتیگراد) برداشت شده و با بافر فسفات- سالین سرد شستشو شد. سپس به هر رسوب سلولی با توجه به میزان سلول‌های ته نشین شده مقدار مشخصی از بافر لیز کننده سلول (حاوی ۱٪ NP-40، ۰/۵ ٪ SDS، ۱۰ میلی‌مولار Tris-HCl (pH ۷/۴:)، ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl، پنج میلی مولار EDTA، ۰/۵ درصد سدیم داکسی‌کولات، ۱۰۰ میکرومولار PMSF و مهارکننده پروتئاز و مهارکننده فسفاتاز) اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه بر روی یخ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. هر پنج دقیقه نمونه‌ها ورتکس می شوند. پس از این مرحله نمونه‌های سلولی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتیگراد با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد(۲۲).

پس از کسب اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌های وزنی با آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. سپس آزمون T مستقل برای تغییرات بین گروهی استفاده شد. تمام عملیات آماری پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و سطح معناداری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

یافته‌ها

در جدول ۱ مقادیر میانگین و انحراف معیار حجم تومور در گروه های پژوهش به تفکیک هفته نشان داده شده است. همچنین در جدول ۲ مقادیر میانگین و انحراف معیار بیان ژن Smad-3، MMP-2 در گروه های پژوهش آمده است. نتایج نشان داد تمرین استقامتی هوازی موجب افزایش معنادار میانگین بیان Smad-3 در بافت تومور در گروه استقامتی نسبت به گروه کنترل شد (P=۰/۰۳۳) (نمودار ۱).

همچنین نتایج نشان داد تمرین استقامتی هوازی موجب کاهش معنادار میانگین بیان MMP-2 در بافت تومور در گروه استقامتی نسبت به گروه کنترل شد (P=۰/۰۴۴). (نمودار ۲). علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد ده هفته تمرین استقامتی هوازی موجب افزایش معنادار میانگین مقادیر پروتئین TGF-β در بافت تومور این گروه نسبت به گروه کنترل شد (P=۰/۰۰۰) (نمودار ۳).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار حجم تومور(واحد حجم تومور میلی متر مکعب) در گروههای مختلف

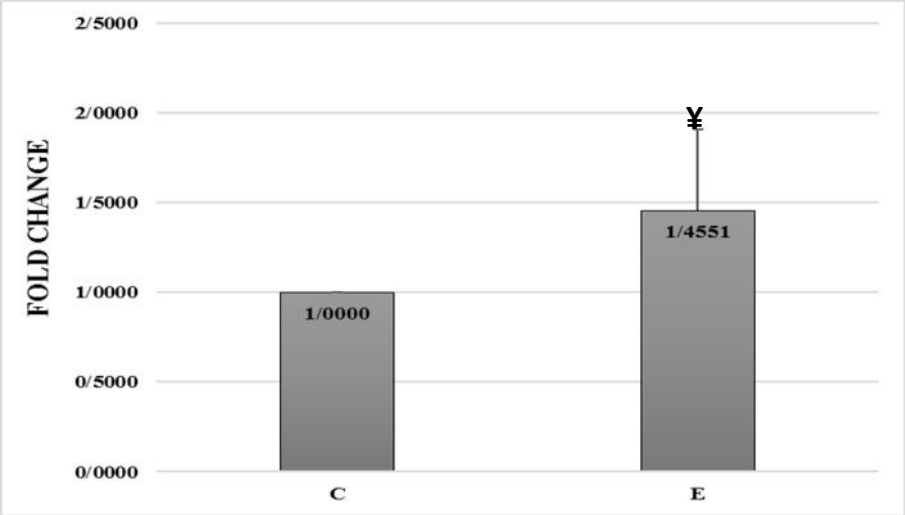
گروه / هفته	تمرین استقامتی هوازی	کنترل
اول	۱۱۲/۰۴±۱۹/۷۸	۱۰۸/۳۸±۲۴/۳۹
دوم	۱۷۴/۱۱±۳۰/۳۴	۱۵۹/۶۷±۲۶/۱۳
سوم	۲۲۱/۸۲±۳۲/۹۷	۲۳۹/۳۷±۲۹/۹۸
چهارم	۲۸۴/۶۴±۲۷/۴۲	۳۷۹/۱۹±۴۳/۲۲
پنجم	۳۷۷/۶۴±۴۲/۸۹	۴۷۸/۰۹±۳۵/۷۰
ششم	۴۷۹/۵۳±۴۴/۶۳	۶۶۷/۴۶±۵۲/۲۱
هفتم	۶۵۲/۱۶±۷۳/۲۲	۷۸۹/۸۶±۳۹/۱۰
هشتم	۸۴۸/۲۳±۸۰/۳۶	۹۹۷/۳۸±۷۱/۰۹
نهم	۱۰۷۰/۸۰±۱۲۲/۷۳	۱۱۵۱/۳۱±۹۴/۷۵
دهم	۱۱۵۸/۰۰±۱۳۴/۴۰	۱۳۱۴/۹۰±۱۲۵/۲۷

جدول ۲. مقادیر میانگین و انحراف معیار بیان ژنSmad-3، MMP-2 در گروه‌های پژوهش

متغیر / گروه	کنترل (تعداد=۱۲)	تمرین هوازی (تعداد=۱۱)
Smad-3 (mRNA expression levels)	۱	۱/۴۵۵±۰/۴۵۱
MMP-2 (mRNA expression levels)	۱	۰/۷۳۷±۰/۲۷۹

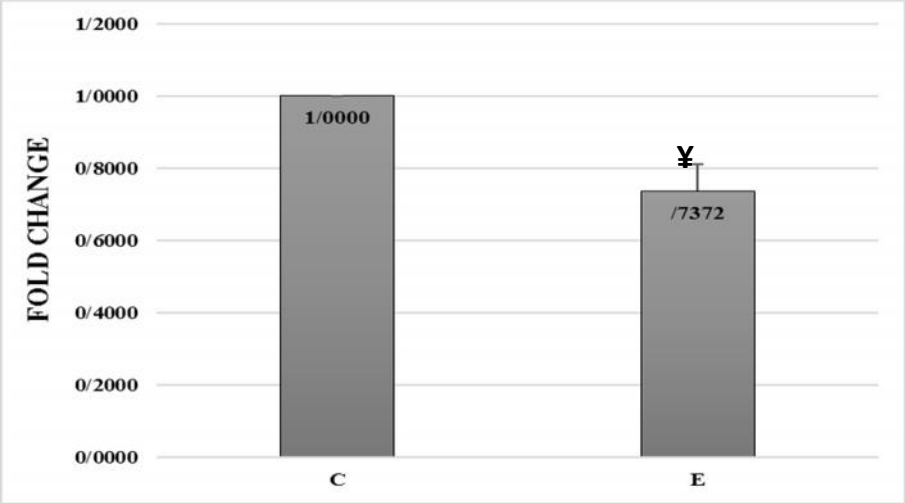
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]



¥ افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل (P<۰/۰۵)

نمودار ۱: تغییرات بیان Smad-3 پس از دوره مداخله

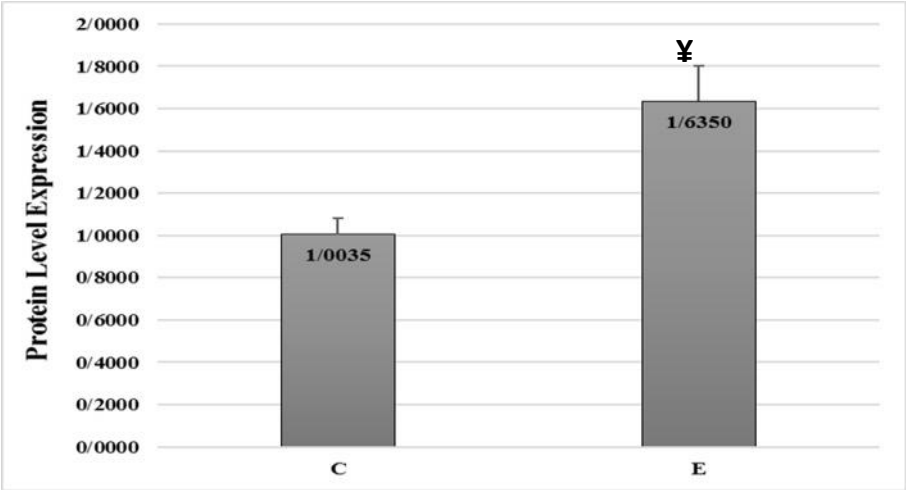


¥ کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل (P<۰/۰۵)

نمودار ۲: تغییرات بیان MMP-2 پس از دوره مداخله

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]



¥افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل (P<۰/۰۵)

نمودار ۳: مقادیر پروتئین TGF-β پس از دوره مداخله

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد تمرین استقامتی هوازی موجب کاهش معنادار میانگین بیان MMP-2 در بافت تومور شده است. سرطان سینه شایع ترین نوع بدخیمی و مهمترین عامل مرگ ناشی از سرطان در زنان سراسر دنیاست، به طوری که بعد از سرطان ریه دومین عامل مرگ زنان محسوب می شود (۲۳). تحقیقات اخیر نشان داده اند باتوجه به اینکه درمانهای رایج ازجمله جراحی، شیمی درمانی، رادیوتراپی و هورمون درمانی، فقط در نیمی از سرطان ها مؤثر بوده است شاید بتوان فعالیت ورزشی را به عنوان یک درمان مکمل و عامل مهم و اساسی جهت بازتوانی بسیاری از بیماری های مزمن ازجمله سرطان به شمار آورد(۲۴). مطالعات نشان داده اند که فعالیت ورزشی با شدت متوسط سبب کاهش میزان مرگ و میر ناشی از انواع سرطان از جمله سرطان سینه می شود(۲۵). ازجمله بررسی های ساده جهت تشخیص زودهنگام و پیش آگهی بیماران مطرح شده، می توان به برخی بیومارکرها اشاره داشت که در ایجاد سرطان، شدت و پاسخ به درمان نقش اساسی و متفاوتی ایفاء می کنند. از جمله این شاخص های اثرگذار MMPها هستند که در تومورهای انواع بافت ها اندازه گیری شده اند(۲۶). تحقیقات نشان داده اند تاثیر پذیری MMP-2 به تمرینات ورزشی محتمل است. در همین راستا برخی تحقیقات کاهش MMP-2 به دنبال فعالیت ورزشی را گزارش کرده اند. همخوان با یافته های تحقیق حاضر، صیدانلو و فرزانگی نتیجه گرفتند که فعالیت بدنی منظم (تمرین پیلاتس به مدت هشت هفته، هر هفته سه جلسه و هر جلسه ۶۰ دقیقه) در زنان دارای اضافه وزن میزان ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ را به طور معنی داری کاهش می دهد. نتایج آنها نشان داد تمرینات پیلاتس تاثیر مثبتی بر ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ در زنان دارای اضافه وزن داشت (۱۴). همچنین پوسا و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه ای نشان دادند که شش هفته فعالیت بدنی اختیاری سطح سرمی MMP-2 در موش های صحرایی نر را کاهش می دهد(۱۵).

تغییرات به وجود آمده در میزان سرم MMPs ناشی از تغییرات به وجود آمده MMPs در بافت ها است. TIMPs و α2 ماکروگلوبولین و TSP-1 مهمترین بازدارنده های MMPs هستند (۲۷). رولمن و همکاران نشان دادند که میزان mRNA MMPs بلافاصله بعد از ورزش افزایش یافت آنها بیان کردند که ممکن است این

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

فاکتورها باعث کاهش MMP-2 در پاسخ به ورزش باشند(۲۲). α2 ماکروگلوبولین بزرگترین آنتی پروتئاز سرمی است که توسط ماکروفاژها و فیبروبلاست های کبدی ساخته شده و تقریباً روی تمام پروتئینازها، بدون توجه به طبقه آن ها، تأثیر می گذارد. α2 ماکروگلوبولین فقط به MMPs فعال متصل می شود(۲۸). فرگوسن و همکاران افزایش در سطوح α2 ماکروگلوبولین را متعاقب یک وهله فعالیت ورزشی مشاهده کردند(۲۹). همچنین TSP-1 از طریق اتصال به زیموژن های MMP-2 مانع از فعال شدن MMP-2 می شود. بنابراین TSP-1 باعث کاهش سطح فعالیت MMP-2 می شود. تحقیقات نشان داده اند که میزان TSP-1 در پاسخ به فعالیت بدنی افزایش می یابد(۳۰). از طرفی دیگر گیرندههای گلیکوپروتئینی بنام اینتگرین، عامل اتصال لیگاندهای ماتریکس خارج سلولی و ساختار های ستیواسکلتال هستند. تحقیقات نشان داده است MMPs توانایی اتصال به این نوع گیرنده ها را دارد؛ در نتیجه اتصال MMP-2 به گیرنده های اینتگرینی نیز می تواند یکی از عوامل کاهش MMP-2 باشد(۳۱).

مطالعات محدودی نیز عدم تغییر یا افزایش این متغیر را نشان داده اند از جمله مکی و همکاران که گزارش کردند ده کیلومتر دویدن در جاده و داخل آب تاثیری بر MMP-2 مردان جوان نداشت(۳۲). همچنین نظری و همکاران نیز مشاهده کردند که فعالیت تناوبی شدید تاثیرمعنی داری بر میزان MMP-2 سرمی در دختران جوان غیر فعال ندارد(۳۳). دانزینگ و همکاران نیز نشان دادند که میزان MMP-2 در پاسخ به ورزش تغییری نمی کند (۳۴). علت اختلاف نتایج این تحقیق با مطاله دانزینگ می تواند مربوط به شدت و مدت فعالیت باشد. هر زیرا آنها از پروتکل وامانده ساز فزاینده کوتاه مدت (کمتر از ۲۰ دقیقه) استفاده کرده بودند و عدم تغییر MMP-2 را گزارش کردند. در حالی که در تحقیق حاضر از تمرین استقامتی استفاده شد. امیرساسان و همکاران در پاسخ به یک جلسه فعالیت هوازی درمانده ساز (پروتکل بروس) در افراد تمرین کرده و افراد بدون تحرک، افزایش معنی دار سطوح MMP-2 را گزارش کردند(۱۳). اختلاف پژوهش امیرساسان با پروهش حاضر در پروتکل تمرینی می باشد. آزمون بروس، دارای شش مرحله سه دقیقه ای می باشد که در هر مرحله علاوه بر سرعت، درصد شیب نیز افزایش می یابد و این روند تا رسیدن فرد به واماندگی ادامه دارد. بنابراین دلیل این اختلاف ممکن است به علل شدت بیشتر آسیب به خصوص آسیب بیشتر میوفیبریل های عضلات درگیر در فعالیت به هنگام دویدن در شیب باشد که می تواند موجب تغییرات بیشتر در سطوح سرمی MMPs در پژوهش امیرساسان و همکاران شده باشد، در حالی که در پژوهش حاضر تمرینات هوازی با شدت متوسط اجرا شد. هم چنین در پژوهش سوهر و همکاران نیز پس از رکاب زنی به شکل تناوبی و با شدت بالا ۱۰ تناوب سه دقیقه ای رکاب زنی با شدت ۸۵ درصد افزایش معنی داری در سطوح سرمی MMP-2 گزارش شد(۳۵). نتایج پژوهش سوهر نیز با پژوهش حاضر متناقض است و به نظر می رسد تداوم تکرارها و تناوب زیاد نیز در این زمینه تاثیرگذار بوده و موجب اختلاف در نتایج شده است. با توجه به روش های به کار گرفته شده در این مطالعات مانند نوع تمرین، آزمودنی ها و همچنین روش نمونه گیری (بیوپسی عضلانی) با پژوهش حاضر اختلاف چشم گیری دارد. بر همین اساس تفاوت در نتایج قابل تصور است.

از طرفی، با وجود تعداد تحقیقات زیادی (۳۸-۳۶)که در مورد پیدا کردن مارکرهایی برای ردیابی وضعیت تومورها منتشر شده به نظر می رسد که هنوز بحث ها و جدالهای محققان بر سر این موضوع ادامه دارد و آن ها هنوز به یک اتفاق واحد در مورد چنین مارکرهایی نرسیده اند و باید به ترکیبی از چند مارکر توجه شود تا حساسیت و ویژگی این موضوع را افزایش دهد(۳۹). نتایج تحقیق حاضر نشان می-دهد تمرین استقامتی هوازی موجب افزایش معنادار میانگین مقادیر پروتئین TGF-β در بافت تومور شده است. بر

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

اساس بررسی های انجام شده این اولین مطالعه ای است که مقادیر TGF–β متعاقب تمرین تناوبی و استقامتی در شرایط سرطان سینه را گزارش می نماید. میزان پروتئین TGF-β1 متعاقب تمرین تناوبی و استقامتی افزایش معنی داری داشت. این نتایج همراستا با نتایج تحقیقاتی بود که افزایش سطوح TGF-β1 بعد از فعالیت حاد و طولانی مدت را گزارش کرده اند (۱۱). تحقیقات نشان داده اند که الگوی تغییرات بیان TGF-β1 در سطح سرمی، بافت و عضله کاملا متفاوت است که مؤید این نکته است که سطوح سرمی TGF-β1 تحت تأثیر بیان این پروتئین در عضله و بافت نیست. به عبارت دیگر عضلات و بافت ها سهمی در تعیین سطوح سرمی TGF-β1 ندارند و بیان آن در عضله اسکلتی تنها اثرات فیزیولوژیک موضعی در این بافت ایجاد می نماید. منبع احتمالی افزایش سطوح سرمی TGF-β1 سلول های صاف دیواره عروق و هم چنین سلول های تک هسته ای خون گزارش شده است. همچنین در تحقیقات پیشین افزایش بیان TGF-β1 در بافت های مختلف متعاقب تمرین حاد گزارش گردیده است (۳۷). عامل دیگر افزایش سطوح لاکتات خون و عضلات است که جزء لاینفک تمرینات تناوبی شدید است. اثرات مثبت لاکتات در افزایش بیان TGF-β1 در مایع مغزی نخاعی در تحقیقات پیشین گزارش شده است (۳۸). با افزایش سطوح لاکتات خون و عضلات در حین تمرینات HITT، این سوبسترا می تواند به راحتی از سد خونی مغزی عبور و سبب افزایش لاکتات درون مغز شود و موجبات افزایش بیان TGF-β1 را فراهم آورد که نتیجه نهایی این فرایند افزایش بیان TGF-β1 در خون و بافت خواهد بود.

دلیل افزایش TGF- β1 نامشخص است لیکن استرس اکسیداتیو و هایپوکسی ناشی از تمرین دو مکانیسم احتمالی هستند(۱۷). مطالعات نشان دادند با افزایش بیان NADPH اکسیداز و کاهش بیان سوپراکسیددیسموتاز، بیان TGF-β1در عضله قلبی و کلیه افزایش می‌یابد (۳۹). به دلیل اینکه متعاقب تمرین شدید وضعیت اکسیدان/آنتی اکسیدان عضله تغییر می کند، با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی TGF-β1 احتمالا یکی از دلایل افزایش TGF-β1 متعاقب تمرین حمایت از وضعیت آنتی اکسیدانی باشد. دلیل مهم‌تر دیگر، وقوع هایپوکسی سلولی ناشی از انجام تمرین HITT است. انجام این تمرینات با هایپوکسی شدید در سلول‌های عضلانی همراه است که منجر به افزایش بیان HIF-1α (Hypoxia-induced Factor 1- α) می‌شود. این فاکتور در سلولها در پاسخ به هایپوکسی افزایش می‌یابد و اعمال بیولوژیک متعددی را واسطه‌گری می کند. تحقیقات پیشین افزایش بیان TGF- β1 تحت تأثیر افزایش بیان HIF-1α گزارش کرده‌اند (۴۰) که می‌تواند HIF-1α را به عنوان فاکتوری مؤثر بر تنظیم مثبت بیان TGF-β1 بعد از تمرینات شدید مطرح نماید. در حمایت از این احتمال، افزایش در محتوای TGF- β1 mRNA بلافاصله بعد از تمرین استقامتی در تحقیقات قبلی گزارش شده است (۴۱). همچنین TGF-β1 یک پروتئین چند کاره است که به عنوان یک سایتوکین ضد التهابی نیز عمل می کند (۴۲) و با توجه به این که فعالیت ورزشی شدید تخریب تارها و پاسخ های التهابی را به همراه دارد، دلیل دیگر افزایش بیان TGF-β1 می‌تواند ناشی از التهاب بافتی عضله متعاقب با تمرین شدید باشد.

مطالعات قبلی ثابت کرده اند که تمرین مقاومتی نیز در افزایش سطوح سرمی TGF-β در بزرگسالان سالم مؤثر است. گراینگر و همکاران نشان دادند که تمرین مقاومتی رونویسی TGF-β را در عضله ی اسکلتی بیماران با دیابت نوع ۲ افزایش می دهد(۴۳). همچنین طبق مطالعه ی تورا و همکاران ترکیب برنامه ی ورزشی هوازی و قدرتی غلظت TGF-β را افزایش داد که نشان از اثر شدید ضد التهابی این تمرین دارد(۴۴). در مطالعه حاضر نیز ده هفته تمرین استقامتی هوازی موجب افزایش معنادار میانگین مقادیر پروتئین TGF-β در بافت تومور این گروه نسبت به گروه

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

کنترل شده است. با این وجود برخی تحقیقات کاهش سطوح سرمی TGF-β بر اثر تمرین را گزارش کرده‌اند؛ به طوری که خدیوی بروجنی و همکاران سطوح سرمی TGF-β بر اثر تمرین را گزارش کرده اند(۱۰). هر چند این کاهش به شکل معنی داری نبود، اما شاید دلیل کاهش آن، نوع تمرین باشد. چون تمرین ها از نوع محرک هیپرتروفی بود، اما TGF-β مخالف آن عمل می کند و آتروفی را تحریک می کند در نتیجه سطح سرمی آن کاهش یافته است. همچنین در تحقیقی نیز نشان داده شده است که ۸ هفته تمرین شنا منجر به تغییری در سطوح TGF-β در رت‌های سالم نشد(۴۵). پروتکل تمرینی در تحقیق فوق، با در نظر گرفتن القا شرایط دیابت، به مدت ۵ دقیقه شنا در هفته اول شروع و تا ۳۰ دقیقه در هفته سوم افزایش یافت، سپس به مدت ۸ هفته ادامه یافت. به نظر میرسد که برنامه تمرینی فوق سبب القا سازگاریهای کافی و در نتیجه تغییر در شاخصهای فوق در بافت قلبی موشهای سالم نشد که این موضوع احتمالاً به کافی نبودن شدت و همچنین مدت تمرین و یا تنظیم نرمال این شاخصها در بافت قلبی رتهای سالم در مقایسه با رتهای دیابتی مربوط شود.

علاوه بر این، نتایج مطالعه ی حاضر نشان داد تمرین استقامتی هوازی موجب افزایش معنادار میانگین بیان Smad-3 در بافت تومور در گروه استقامتی نسبت به گروه کنترل شده است. تحقیقات نشان داده اند که مسیر سیگنالینگ TGF-β با تحریکات Smad2 و Smad3 آغاز می شود و در نهایت تحت تاثیر Smad4 توسط گیرنده های سرین – ترئونین کیناز متصل به غشای سلولی فسفریله و فعال می شود(۴۶). این پروتئین به صورت ترکیبات همسان یا غیر همسان با دیگر اعضای خانواده Smad وارد هسته شده و فرایند منع تمایز سلولی و مهار رشد سلولی را انجام می دهند(۴۷). هدف عمده Smad-3 /TGF-β منع فرایند تکثیر و رشد سلولی است(۴۸). لذا افزایش در بیان Smad-3 /TGF-β در اثر انجام تمرین استقامتی می تواند اثر مهاری این مسیر را افزایش داده و از تمایز سلولی و رشد سلولی تومور جلوگیری نماید. متاسفانه روش تحقیق حاضر به گونه ای نیست که بتوان راجع به این عامل اظهار نظر قطعی کرد و انجام تحقیقات دیگر با کنترل همزمان این چند فاکتور به محققان بعدی پیشنهاد می شود. همچنین افزایش مشاهده شده در بیان TGF-β و Smad-3 در تحقیق حاضر به دنبال اعمال تمرین استقامتی هوازی، با در نظر گرفتن نقش این فاکتور ها در منع تمایز سلولی و مهار رشد سلول های تومور از اهمیت خاصی برخوردار است. سلول ها و بافتها در بدن تابع شرایط محیطی خود هستند و لذا به نظر می رسد که با انجام تمرین استقامتی هوازی، سلولهای عضله در پاسخ به حجم تمرین دریافتی و در جهت تطابق با تمرین اعمال شده با افزایش بیان و میزان پروتئین به تمرین پاسخگو باشند.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته های تحقیق حاضر مشخص شد که تمرین استقامتی هوازی موجب کاهش معنادار میانگین بیان MMP-2 همچنین افزایش معنادار میانگین مقادیر پروتئین TGF-β و Smad-3 در بافت می شود. با این وجود، با توجه به مطالعات اندک انجام شده در این رابطه، تحقیق روی ارتباط بین فعالیت ورزشی، سرطان پستان و بیان فاکتورهای التهابی به وضوح نیاز به توضیح بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری تربیت بدنی، گرایش فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد تهران مرکز می باشد. بدینوسیله از استاد راهنما و اساتید مشاور که بنده را در انجام این پژوهش یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

Reference

1.Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk -- where do we stand in 2005? J Cell Mol Med 2005; 9: 208-21.

2.Jurasz P, Sawicki G, Duszyk M, Sawicka J, Miranda C, Mayers I, et al. Matrix metalloproteinase 2 in tumor cell-induced platelet aggregation: regulation by nitric oxide. Cancer Res 2001; 61:376- 82.

3.Koskinen SO, Höyhtyä M, Turpeenniemi-Hujanen T, Martikkala V, Mäkinen TT, Oksa J, et al. Serum concentrations of collagen degrading enzymes and their inhibitors after downhill running". Scand J Med Sci Sports. 2001; 11:9-15.

4.Derynck R, Akhurst RJ, Balmain A. TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression. Nat Genet 2001; 29: 117-29.

5.Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-β family signalling. Nature. 2003; 425:577-584.

6.Santos AR, Neves MT Jr, Gualano B, Laurentino GC, Lancha AH Jr, Ugrinowitsch C, Lima FR, Aoki MS. Blood flow restricted resistance training attenuates myostatin gene expression in a patient with inclusion body myositis. Biol Sport. 2014; 31:121-4.

7.Donley DA, Fournier SB, Reger BL, DeVallance E, Bonner DE, Olfert IM, Frisbee JC, Chantler PD. Aerobic exercise training reduces arterial stiffness in metabolic syndrome. J Appl Physiol 2014; 116: 1396-404.

8.Leite RD, Durigan Rde C, de Souza Lino AD, de Souza Campos MV, Souza Md, Selistre-de Araújo HS, et al. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. Metabolism 2013; 62: 1477-84.

9.Sajadian S, Nikooie R. TGF-β1 protein Expression in the Skeletal Muscle Following High Interval Training and its Relationship with Intramuscular Triglycerides Oxidation. Journal of Sport in Biomotor Sciences 2015; 6: 45-54.

10.Khadivi Borujeny Alireza, Mohammad Marandi, Shaghayegh Haghjooy Javanmard, Hamid Rajabi, Zahra Khadivi Burojeny, Mahdi Khorshidi Behzadi. Effect of Eight Weeks of Resistance Training on Some Signaling Factors Affecting on the Satellite Cells in Wistar Rats. Journal of Isfahan Medical School 2012; 30:1-8.

11.Czarkow Paczek B, Bartlomiejczyk I, Przybylski J. The serum levels of growth factors: POGF,TGF-BETA and VEGF are increased after strenuous physical exercise. Journal Physiology and Pharmacology. 2006; 57:189-197.

12.Souza Markus VC, Richard DL, Lino Anderson DS, Rita V, Celene FB, Heloisa S, et al. Resistance training improves body composition and increases matrix metalloproteinase 2 activity in biceps and gastrocnemius muscles of diet-induced obese rats. CLINICS 2014; 69:265-270

13.Amirsasan R, Mirshafiei A, Gaeini AA, Ravaasi AA, Letafatkar A, Saadat F, et al. Effects of Exhaustive Aerobic Exercise on Matrix Metaloproteases. Activity in Athletes and Non-Athletes World Journal of Sport Sciences 2011; 4: 185-191.

14.Seidanloo F, Farzanegi P. Changes in Matrix Metallo-proteinases 2, 9 and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase 1 to Synchronized Exercise Training and Celery, as an Herbal Supplement, in Overweight Women. Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology 2016); 1: 107-118.

15.Pósa A, Renáta S, Krisztina K, Zoltán B, Zita S, Anett C, et al. Cardioprotective Effects of Voluntary Exercise in a Rat Model: Role of Matrix Metalloproteinase-2. 2015; 876805- 9.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

16.Montaruli A, Patrini P, Roveda E, Carandente F. Physical activity and breast cancer. Sport Sci Health 2012; 8:1-13.
17.Lee IM. Physical activity and cancer prevention-data from epidemiologic studies. Medicine and Science in Sports and Exercise 2003; 35: 1823-7.
18.Alaei H, Moloudi R, Sarkaki AR. Effects of treadmill running on mid-term memory and swim speed in the rat with Morris water maze test. J Bodyw Mov Ther. 2008; 12:72-5.
19.Lanari C, Lüthy I, Lamb CA, Fabris V, Pagano E, Helguero LA, et al. Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: in vivo and in vitro effects of estrogens and progestins. Cancer research 2001; 61: 293-302.
20.Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, Kothadia SM, Keir ST, Freedland SJ, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. J Appl Physiol 2010; 108: 343-8.
21.Kambiz Hassanzadeh, Mehrnoush Nikzaban, Mohammad Raman Moloudi, Esmael Izadpanah. Effect of selegiline on neural stem cells differentiation: a possible role for neurotrophic factors. Iran J Basic Med Sci. 2015 Jun; 18: 549–554.
22.Rahimmi A, Khosrobakhsh F, Izadpanah E, Moloudi MR, Hassanzadeh K. N-acetylcysteine prevents rotenone-induced Parkinson's disease in rat: An investigation into the interaction of parkin and Drp1 proteins. Brain Res Bull. 2015; 113:34-40.
23.Duffy MJ. Biochemical markers in breast cancer: which ones are clinically useful? Clin Biochem 2001; 34:347-52.
24.Kacha AK, Fallarino F, Markiewicz MA, Gajewski TF. Cutting edge: spontaneous rejection of poorly immunogenic P1.HTR tumors by Stat6-deficient mice. J Immunol 2000; 165:6024-8.
25.Banfi G, Dolci A, Verna R, Corsi MM. Exercise raises serum heatshock protein 70 (Hsp70) levels. Clin Chem Lab Med 2004; 42:1445-6.
26.Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer: College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med 2000; 124:966-78.
27.Marsha A. Moses, the Regulation of Revascularization by Matrix Metalloproteinase and Their Inhibitors. Stem Cells 15 (1997) 180-189.
28.Borth. W, Alpha 2-macroglobulin, a multifunctional binding protein with targeting characteristics. FASEB J 1992; 6: 3345-3353.
29.Fergusen EW, Bernier LI, Banta GR, Effect of exercise and conditioning on clotting and fibrinolytic activity in men. j Appl physiol 1987; 1416-1421.
30.Olfert IM, Breen EC, Gavin TP. Temporal mRNA thrombospondin-1 response in skeletal muscle exposed to acute and chronic exercise. Growth Factors 2006; 24:253-259.
31.Steve S, Kessler T, Joel G, Dale LB, David AC. Disruption of matrix metalloproteinase 2 binding to integrin αvβ3 by an organic molecule inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo. PNAS 2001; 6: 119-124.
32.Mackey AL, Donnelly AE, Swanton A, Murray F, Turpeenniemi-Hujanen T. The effects of impact and non-impact exercise on circulating markers of collagen remodelling in humans. Sports Sci 2006; 24: 843-8.
33.Nazari M, Kordi M R, Choobineh S. The Effect of High Intensity Interval Training (HIIT) on Gelatinase-A (MMP-2) Serum Levels and Muscle Damage Indices in Young Sedentary Girls. Arak University of Medical Sciences Journal. 2015; 18:78-86
34.Danzig V, Blanka M, Petr K, Levels of circulating biomarkers at Rest and after exercise in coronary artery disease patients. Physiologival research, 2010; 15:1374-1379.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]

35.Suhr F, Brixius K, de Marées M, Bölck B, Kleinöder H, Achtzehn S, et al. Effects of shortterm vibration and hypoxia during highintensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. Journal of applied physiology. 2007; 103:474-83.
36.Lumachi F, Brandes AA, Boccagni P, Polistina F, Favia G, D'Amico DF. Long-term follow-up study in breast cancer patients using serum tumor markers CEA and CA 15-3. Anticancer Res 1999; 19:4485- 90.
37.Kimsa M, Strzalka-Mrozik B, Kimsa M, Gola J, Kochanska-Dziurowicz A, Zebrowska A, et al. Expression pattern of the transforming growth factor β signaling genes in human peripheral blood mononuclear cells after exercise-inflammatory aspects. American Journal of Human Biology 2012; 24:859-862.
38.Yamda H, IwakiY, Kitaoka R, Fujitani M, Shibakusa T, Fujikawa T. Blood Lactate Functions as a Signal for Enhancing Fatty Acid Metabolism during Exercise via TGF-β in the Brain. J Nutr Sci Vitaminol 2012; 58: 88-95.
39.Zhao W, Zhao T, Chen Y, Ahokas RA, Sun Y. Kidney fibrosisin hypertensive rats: role of oxidative stress. Am J Nephrol 2008; 28: 548-554
40.George DJ, Kaelin WG. The von Hoppel-Lindau protein,vascular endothelial growth factor and kidney cancer. J Med 2003; 349: 419-4.
41.Czarkowska B, Zendzian M, Bartlomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J.The effect of acute and prolonged endurance exercise on transforming growth factor-beta1 generation in rat skeletal and heart muscle. J physiol pharmacol 2007; 60:157-62.
42.Feinberg MW, Jain MK, Werner F, Sibinga NE, Wiesel P, Wang H, et al. Transforming growth factor-beta 1 inhibits cytokine-mediated induction of human metalloelastase in macrophages. J Biol Chem 2000; 275: 25766-73.
43.Grainger DJ. Transforming growth factor beta and atherosclerosis: so far, so good for the protective cytokine hypothesis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004; 24: 399-404.
44.Touvra AM, Volaklis KA, Spassis AT, Zois CE, Douda HD, Kotsa K, et al. Combined strength and aerobic training increases transforming growth factor-beta1 in patients with type 2 diabetes. Hormones (Athens) 2011; 10: 125-30.
45.Habibian M, Khosravi M. The Effect of 8 weeks regular swimming exercise on the cardiac levels of matrix mettaloproteinase-2 and transforming growth factor-B1 in diabetic rats. ijdld. 2016; 15 :67-74
46.Moustakas A, Souchelnytskyi S, Heldin CH. Smad regulation in TGF-beta signal transduction. J Cell Sci 2001; 114: 4359-4369.
47.Glass DJ. Signaling pathways perturbing muscle mass. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2010; 13:225–229
48.Braga M, Bhasin S, Jasuja R, Pervin S, Singh R. Testosterone inhibits transforming growth factor-β signaling during myogenic differentiation and proliferation of mouse satellite cells: Potential role of follistatin in mediating testosterone action. Mol Cell EndocrinolMarch, 2012; 350: 39–52.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-09]

[DOI: 10.22102/22.3.60]