تاثیر تمرین هوازی و آب انار بر سطوح سرمی برخی microRNAs مرتبط با سیستم اکسایشی/ضداکسایشی زنان بهبود یافته از سرطان پستان

بابک روزبهان[1]، حسین عابد نطنزی[2*]، خسرو ابراهیم[3]، فرشاد غزالیان[2]

۱-دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲-استادیار، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۳- استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

یافته / دوره ۲۳ / شماره ۴ / پاییز ۱۴۰۰ / مسلسل ۸۹

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۵/۵ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۷/۱۴

مقدمه: سرطان پستان از شایعترین سرطان ها بوده و با سهم ۲۵/۵ ٪ اولین علت عمده مرگ های نا شی از سرطان در میان زنان جهان به شمار می آید. استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال های آزاد در بدن به عنوان یکی از مهم ترین دلایل پیشرفت انواع سرطان مطرح هستند. هدف این پژوهش مطالعه تاثیر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف آب انار بر سطوح برخی میکروRNAهای مرتبط با سیستم اکسایشی/ضداکسایشی زنان بهبود یافته از سرطان پستان بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه نیمه تجربی۴۰ زن نجات یافته از سرطان پستان با میانگین سنی(۱/۹۵ ±۴۲/۴۵) به‌طور تصادفی به چهار گروه ۱۰ نفری کنترل، تمرین هوازی، آب انار، تمرین هوازی- آب انار تقسیم شدند. گروه های تمرینی هشت هفته و هفته ای سه جلسه، ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به تمرین هوازی با شدت ۵۰٪ تا ۷۰٪ ضربان قلب هدف پرداختند.گروه های آب انار نیز قبل از هر جلسه تمرین، ۱۰۰ سی سی آب انار نوشیدند. جهت بررسی متغیرهای پژوهش ۴۸ ساعت قبل و بعد از تمرین از شرکت کننده ها خونگیری شد. MicroRNAs انکوژن مانند miR-21 وmiR-15 به روش RT-PCR سنجش گردید. جهت بررسی داده ها از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، کوواریانس و آزمون تعقیبی بنفرونی با سطح معناداری P≤۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها: هشت هفته تمرین هوازی همراه مصرف آب انار باعث کاهش معنی دار در سطوح سرمی miR-21 (P=۰/۰۰۱) و miR-155(P=۰/۰۰۱) زنان نجات یافته از سرطان پستان نسبت به گروه کنترل گردید.

بحث و نتیجه‌گیری: تمرین هوازی همراه با مصرف آب انار باعث کاهش microRNAs انکوژن مثل miR-21 وmiR-155 در زنان نجات یافته از سرطان پستان شد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، آب انار، آنتی اکسیدان، microRNA ، سرطان پستان.

*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات.

پست الکترونیک: : abednazari@gmail.com

مقدمه

سرطان پستان نوعی بدخیمی است که به دنبال ظهور و تجمیع تغییرات ژنتیکی در شخص بروز کرده و با رشد بی رویه سلول ها در بافت پستان مشخص می گردد (۱). بر طبق گزارش آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC) وابسته به سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۸ بیش از ۱۸ میلیون مورد جدید ابتلا به سرطان در ۱۸۵ کشور جهان شناسایی شده و هر ساله به طور تقریبی ۲٪ به تعداد این مبتلایان افزوده می شود (۲). آمارهای منتشره در ایران نیز نشان می دهند که سرطان پستان با شیوع ۲۳/۱ نفر در هر ۱۰۰ هزار زن و داشتن سهم ۲۴/۴٪ از جمعیت زنان بهبود یافته از سرطان، رتبه اول سرطان ها را در بین زنان کسب می کند (۳).

علیرغم ناشناخته بودن علل اصلی بروز تومورهای پستانی در انسان، فاکتورهایی که به روند ایجاد و تکامل این تومورها کمک می کند تا حد زیادی شناخته شده اند. فاکتورهای خطر در این سرطان شامل افزایش سن، یائسگی دیررس، مصرف قرص های ضد بارداری، چاقی مفرط و وزن بالا هستند که همگی اثرات نامطلوب خود را با ایجاد استرس اکسیداتیو نشان می دهند (۴). استرس اکسیداتیو و تولید بیش از حد رادیکال های آزاد در بدن یکی از مهم ترین دلایل پیشرفت بسیاری از بیماری ها منجمله سرطان به شمار می روند (۵).

در مقابله با فرآیند تولید رادیکال های آزاد و بروز استرس اکسایشی، دستگاه‌های بیولوژیک بدن انسان دارای برخی از مکانیسم های دفاع ضد اکسایشی آنزیمی و غیر آنزیمی هستند که می توانند اثر آنها را خنثی کنند (۶). در حقیقت آنتی اکسیدان ها، سد دفاعی بدن در مقابل عوامل اکسیدانی بوده و با تثبیت وضعیت ردوکس میتوکندریایی، حذف گونه های فعال اکسیژنی و غیر اکسیژنی و برقراری تعادل مابین واکنش های تنظیمی و کاهش دهنده اکسایش در انسان می توانند نقش مهمی را در پیشگیری و درمان بیماری ها ایفاء کنند.

حال اگر بتوان با انجام اقداماتی به صورت مستقیم یا غیر مستقیم در زمینه افزایش میزان آنتی اکسیدان های بدن یا کاهش عوامل اکسیدانی در آن کمک نمود، قادر می شویم که سطح استرس اکسایشی را کاهش داده و از بروز عوارض مخرب آن همچون سرطان در بدن جلوگیری کنیم (۷). مصرف مواد غذایی حاوی انواع آنتی اکسیدان ها و انجام فعالیت های ورزشی، دو نمونه از شناخته شده‌ترین این اقدامات به شمار می روند که تاثیر آنها طی سال های اخیر مورد تاکید بسیاری از محققان قرار گرفته است (۷-۵، ۹).

فواید تمرینات ورزشی برای بیماران مبتلا به سرطان پستان کاملا تایید شده است و کمبود تحرک جسمی می‌تواند خطر ابتلا به سرطان پستان را ۲ تا ۵ برابر افزایش دهد (۸). فعالیت بدنی منظم امکان ابتلا به سرطان پستان را ۳۰ تا ۴۰درصد کم کرده و قادر است که بسیاری از عوارض جانبی روش های درمانی رایج مثل شیمی درمانی و پرتو درمانی را کاهش دهد (۹). محققان بر این باور هستند که برنامه ورزشی منظم در بیماران بهبود یافته از سرطان، می تواند سطوح فعالیت آنان را بدون افزایش سطح خستگی بالا برده و بدین طریق باعث کاهش اضطراب، افزایش کیفیت زندگی و حس رضایت از خود، در فرد مبتلا شود (۱۰).

در کنار فعالیت های ورزشی استفاده از مواد غذایی حاوی آنتی اکسیدان ها مخصوصا میوه‌ها و سبزیجات، از مهمترین تدابیر درمان سرطان در انواع طب سنتی، اسلامی و طب نوین به شمار می رود (۷).

داده های پژوهشی متعددی نشان می دهند که مواد فوتو شیمیایی موجود در میوه ها و سبزیجات می تواند به عنوان عوامل بازدارنده قوی در مقابل سرطان عمل نماید. انار با نام علمی پونیکا گراناتوم (Punica Granatum) یکی از شناخته شده ترین این گیاهان می باشد که خواص دارویی

و ضد سرطانی آن موضوع پژوهشهای متعددی در ایران و جهان قرار گرفته است (۱۱).

گیاه انار بیشتر از ۱۰۰ نوع ترکیب مختلف شیمیایی دارد که اکثریت آنها با دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی قوی، می توانند وظیفه حفاظت در برابر انواع سرطان ها منجمله سرطان پستان را به عهده بگیرند (۱۲). میزان اثر و قدرت آنتی اکسیدانی آب انار بیشتر از سایر میوه ها بوده (۱۳) و قابلیت آن را دارد که در پیشگیری بسیاری از بدخیمی ها منجمله سرطان پستان نقش ایفاء کند (۱۴).

با این وجود، علیرغم گسترش روز افزون تحقیقات و پیشرفت های علمی که در زمینه شناخت انار و سایر عوامل تاثیرگذار بر استرس اکسیداتیو و درمان سرطان انجام شده است، متاسفانه هنوز روش موثر و استانداردی برای تشخیص به موقع و زودرس این عارضه و تعیین میزان تاثیر عوامل مذکور در گسترش یا بهبودی سرطان وجود ندارد.

بر مبنای روش های مرسوم، تشخیص قطعی و نهایی سرطان تنها توسط نمونه برداری بافتی امکان پذیر بوده که علاوه بر تحمیل عمل جراحی به بیمار، معمولاً در مراحل پیشرفته و نهایی سرطان مورد استفاده قرار می گیرد. از این رو حتی در صورت قبول خطرات ناشی از آن، تشخیص با این روش سود چندانی به حال بیمار نخواهد داشت (۱۵). وجود چنین چالشی در تشخیص زودرس و به موقع سرطان، مانع از درمان سریع و موثر بیماری شده و باعث تحمیل رویه های سخت، خطرناک و ناکارآمد درمانی به بیمار خواهند شد.

در تلاش برای حل این چالش و پیدا کردن روش های موثرتر برای تشخیص سریعتر سرطان، امروزه دانشمندان از میکرو آر ان آ ها (MicroRNAs) جهت شناسایی، کنترل و درمان سرطان، حتی در مراحل آغازین آن بهره می گیرند. میکرو RNAهایی که با فنوتیپ های بدخیم ارتباط تنگاتنگ دارند، می توانند به عنوان نشانگرهای تشخیصی جهت شناسایی زودرس و اولیه بیماری، بسیار کمک کننده باشند (۱۶). شناسایی میکرو RNAهای توموری که طی مراحل تدریجی پیشرفت بیماری در جریان خون منتشر می شوند، روشی کلیدی در تشخیص به موقع سرطان محسوب می گردند (۱۷).

بیش از ۲۵۰۰ میکرو RNA در ژنوم انسان شناسایی شده است که مسئولیت تنظیم بیشتر از ۳۰ درصد ژن های کد کننده پروتئین را بر عهده دارند ۱۸). از آنجا که بیان میکرو RNAها با انواع ویژگیهای بالینی و زیستی تومور از قبیل نوع بافت، تمایز، تهاجم و پاسخ به درمان مرتبط می باشد، بنابراین می توان بدون نیاز به کاربرد هیچ نوع روش تهاجمی از میکرو RNA های موجود در سرم یا پلاسمای خون مبتلایان به عنوان نشانگرهای تشخیصی سلول های سرطانی استفاده نمود (۱۹). در این بین میرهای خانواده Let-7، miR-21، miR-155 و miR-34a از کلیدی-ترین و شاخص ترین میکرو RNA های مرتبط با سرطان پستان محسوب می شوند (۲۰).

miR-21 در کروموزوم ۱۷ واقع شده و ۲۰ تا ۲۴ نوکلئوتید دارد و از مهمترین نشانگرهای زیستی موجود در تشخیص و درمان اغلب سرطان ها مخصوصا سرطان دهان، روده و پستان محسوب می شود (۲۰). بیان نابجای miR-21 می تواند از طریق تنظیم ژن های هدف و تعدیل مسیر پایین دست آنها، قابلیت تهاجم تومور را افزایش داده و منجر به متاستاز آن شود (۲۱). مطالعات اخیر میزان بالایی از miR-21 را در سرم بیماران بهبود یافته از سرطان پستان نشان داده است (۲۲). کاربرد آنتی میر ۲۱ (Anti miR-21) در رده سلولهای سرطانی پستان با قابلیت متاستاز مثل MDA-MB-231، می تواند تهاجم و گسترش آنها را تا حد معنی داری کاهش دهد (۲۲).

miR-155 از دیگر مارکرهای زیستی مرتبط با سرطان است که دارای ۲۰ تا ۲۴ نوکلئوتید بوده و همچون miR-21، به عنوان یکی از میرهای فعال کننده پروتئین های آنکوژن شناخته می شود (۲۴). مطالعات روت

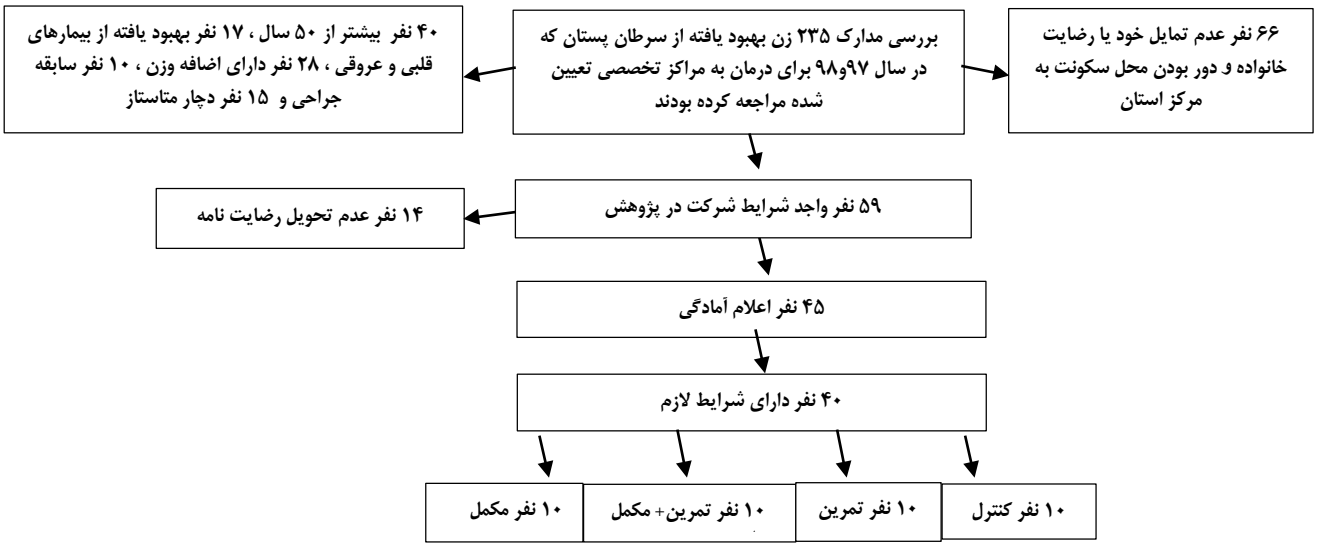
و همکاران، چن و همکاران و حافظ و همکاران نشان می دهد که miR-155 با اتصال به سلول ها منجر به تغییر ساختار و فعالیت پروتئین هایی همچون FOXO3a,PBX1 می گردد که با سرطان پستان در ارتباط هستند (۲۵-۲۷). در همین ارتباط، سان و همکاران نیز (۲۸) با تحقیقات خود نشان دادند که در مقایسه با افراد غیر سرطانی، miR-155 در افراد بهبود یافته از سرطان پستان دچار نوعی تنظیم خود افزایشی می شود.

نگاهی به پژوهش های انجام شده نشان می دهد که تاکنون مطالعات متعددی در زمینه چگونگی تاثیر تمرین های ورزشی هوازی و نحوه ارتباط انواع مارکرهای التهابی و آنتی اکسیدانی با سرطان پستان صورت گرفته است. اما هیچ‌یک از آنها بر میرهای مرتبط با عوامل اکسیدانی/آنتی اکسیدانی متمرکز نبوده و همچنین تاثیر تعاملی تمرین ورزشی با آب انار بر روی این عوامل نیز تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. از این رو گمان می رود که مطالعه اثر تعاملی تمرین و آب انار بر روی این عوامل می تواند راهبردهای جدیدی را برای مطالعات بعدی فراهم کرده و نتایج آن در زمینه درمان سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرد.

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی به همراه مصرف آب انار بر وضعیت دو نوع از میکرو RNAهای سرمی انکوژن مرتبط با فعالیت‌های اکسیدانی/ آنتی‌اکسیدانی و مشخص کردن ارتباط آنها با سیر پیشرفت بیماری در زنان بهبود یافته از سرطان پستان بوده است.

مواد و روش‌ها

از آنجا که شرکت کننده های مطالعه حا ضر را زنان نجات یافته از سرطان پستان تشکیل داده و به لحاظ برخی متغیرها کاملا تحت کنترل نبودند، لذا تحقیق حاضر از نوع پژوهش های نیمه تجربی بشمار می‌رود که در قالب یک طرح پیش آزمون و پس آزمون با چ‌هار گروه ۱۰ نفری تمرین هوازی، مصرف آب انار، تمرین هوازی با مصرف آب انار و کنترل اجرا شد. دیاگرام ذیل نشان دهنده روند اجرای این مطالعه از ابتدا تا انتها می باشد.



دیاگرام ۱. مراحل اجرای طرح پژوهشی در زنان بهبود یافته از سرطان پستان

جامعه و نمونه آماری پژوهش

جامعه آماری این پژوهش را زنان ۳۰ تا ۴۵ ساله دارای پرونده پزشکی در مراکز تخصصی شهرستان رشت، تشکیل دادند. برای تعیین نمونه‌های آماری این پژوهش پس از

کسب اجازه‌های لازم، ابتدا فهرست اسامی بیمارانی که سرطان پستان آنها حداقل از ۶ ماه قبل محرز شده بود از بایگانی مدارک پزشکی بیمارستان های مورد نظر تهیه گردید.

نمونه های این تحقیق، زنان بهبود یافته از سرطان پستان و بدون متاستاز بافت های پستانی بودند که با توجه به نتایج سونوگرافی و از بین تعداد کل ۲۳۵ بیمار دارای پرونده درمانی که در طی سال های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ به مراکز درمانی مورد نظر مراجعه کرده بودند، انتخاب شدند. پس از هماهنگی و بررسی های اولیه و کنار گذاشته شدن افراد غیر واجد شرایط و بی علاقه برای شرکت در پژوهش، سرانجام در پاییز سال ۱۳۹۸، تعداد ۵۹ نفر بیمار واجد شرایط شناسایی و انتخاب شدند. شماره تلفن و آدرس محل سکونت آنها ثبت و از کلیه این بیماران برای حضور در این پژوهش دعوت به عمل آمد. در نهایت ۴۰ نفر از این تعداد آمادگی خود را به شکل رسمی اعلام کرده و داوطلب شرکت در این مطالعه شدند.

این نمونه ها به طور تصادفی به چهار گروه مساوی: کنترل (۱۰ نفر)، تمرین هوازی (۱۰ نفر)، مصرف آب انار (۱۰نفر) و تمرین هوازی و مصرف آب انار (۱۰نفر) تقسیم شدند.

معیارهای ورود به پژوهش عبارت بود از:

کلیه زنانی که در محدوده سنی ۳۰ تا ۴۵ سال قرار داشته با شند، ابتلای آنان به سرطان پستان به اثبات ر سیده، در زمان تشـــخیص بیماری دچار یائســـگی فیزیولوژیک نبوده (یائســـگی ناشـــی از عوارض درمان که اغلب مبتلایان طی پروســـه های درمانی دچار آن شـــده و به دنبال آن تحت درمان هورمونی با داروهایی مثل تاموکسیفن و یا لتروزول قرار می گیرند، از شمول این معیار خارج می باشد).

معیارهای خروج از این مطالعه نیز عبارت بود از:

عدم انجام هرگونه درمان اختصاصی(شیمی درمانی و پرتودرمانی) از شش ماه قبل از شروع پژوهش، عدم انجام هرگونه عمل جراحی در زمینه درمان سرطان، عدم وجود سابقه مصرف دخانیات و الکل حداقل از ۱۲ ماه قبل از شروع تمرینات ورزشی، عدم انجام شیمی درمانی و آندروژن درمانی در حال حاضر، عدم ابتلا به انواع بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌ها و اختلالات سیستمیک مزمن مانند دیابت و هیپرتیروئیدی، ناهنجارهای هورمونی یا سیستم ایمنی، بیماری‌های ذهنی و روانی، عیوب جسمانی یا اختلالات مغزی و عصبی که مانع از انجام فعالیت ورزشی گردد، نداشتن سابقه هیپرتانسیون شدید (بیشتر از ۱۶۰ بر روی ۹۰ mm/hg)، نداشتن سابقه تمرینات ورزشی مداوم قبل از شروع برنامه تمرینی وعدم وجود متاستاز سلول های سرطانی به بافت ها و ارگان های دیگر بدن بود.

ضمناً در صورتی که هر یک از داوطلبان به دنبال جلسات تمرینی، دچار مشکلات قلبی تنفسی مثل افزایش فشار خون بیشتر از ۳۰ میلیمتر جیوه یا تنگی نفس شدید، حالت تهوع و سرگیجه، ابتلاء به دردهای راجعه و مزمن در نواحی مختلف بدن و خستگی بیش از حد شوند که مانع از ادامه تمرینات گردد، به عنوان معیار خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

پروتکل تمرین هوازی

در این مطالعه از فعالیت هوازی به عنوان مداخله ورزشی استفاده گردید. به شرکت کننده ها توضیح داده شد که ۴۸ ساعت قبل از مراحل نمونه گیری خون (قبل و پس از جلسه تمرینی)، نباید در هیچ گونه فعالیت بدنی شرکت کنند. برنامه تمرینی مورد استفاده بر اساس آخرین دستورالعمل کالج آمریکایی پزشکی ورزشی (ACSM) در سال ۲۰۱۰ تنظیم شد (۲۹).

به نحوی که شرکت کنندگان گروههای تمرینی به مدت هشت هفته و هر هفته سه بار در جلسات تمرین هوازی فزاینده با زمان تقریبی ۶۰ تا۹۰ دقیقه برای هر جلسه که شدت آنها بر حسب ضربان قلب هدف تعیین می گردید، شرکت نمودند. ضربان قلب هدف بر اساس روش

کارونن محاسبه شد (۳۰) و تعداد آن با استفاده از ضربان سنج پلار مورد سنجش قرار گرفت

شرکت کننده‌ها جلسات تمرین را با نظارت دو متخصص ثابت اجرا کردند. براساس مطالعات صورت گرفته و با در نظر گرفتن محدوده سنی شرکت کننده‌ها، از تمرین با شدت پایین تا متوسط برای این آنان استفاده شد. هر جلسه برنامه تمرین هوازی در سه بخش شامل گرم کردن، فعالیت اصلی و سرد کردن اجرا شد. گرم کردن شامل حرکات کششی و نرمشی بوده که با شدت ۲۰ تا ۳۰ درصد ضربان قلب هدف به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه بوده و سپس شرکت کننده ها به مدت ۳۵ تا ۶۵ دقیقه بر روی دوچرخه ثابت با شدت ۷۰-۵۰ درصد حداکثر ضربان قلب به فعالیت اصلی پرداختند. در پایان هر جلسه نیز عمل سرد کردن با حرکات نرمشی و کششی، به مدت ۱۰دقیقه انجام گردید. در طی این مدت هیچ گونه فعالیت ورزشی توسط گروه کنترل انجام نشد (۳۰).

پروتکل مصرف آب انار

آب انار مورد مصرف در این مطالعه، آب انار طبیعی بود که توسط دستگاه آب انارگیری دستی ستاره و به صورت تازه در محل تمرین تهیه می شد. به این ترتیب هر یک از شرکت کنندگان گروه های مصرف کننده آب انار و تمرین هوازی + مصرف آب انار، یک روز در میان عصرها و قبل از انجام تمرینات ورزشی، ۱۰۰ سی‌سی آب انار طبیعی نیز دریافت کردند (۳۱).

اندازه گیری متغیرهای فردی و فیزیولوژیکی:

وزن آزمودنی‌ها با استفاده از ترازو دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ کیلوگرم ساخت کشور ژاپن، قد آنها با استفاده از قدسنج دیجیتالی ساخت کشور ایران، ضربان قلب آنها با استفاده ازضربان شمار دیجیتال پولار ساخت کشور فنلاند و شاخص توده بدنی آنها با تقسیم وزن (کیلوگرم) به مربع قد (متر) اندازه‌گیری شد. توان هوازی آزمودنی‌ها (Vo_2max) نیز قبل و بعد از تمرین با استفاده از آزمون استاندارد راکپورت (Rockport Test) مورد بررسی قرار گرفت (۳۳).

اندازه گیری های خونی و بیوشیمیایی

خون‌گیری از شرکت کننده های مطالعه 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 ۱۰ میلی لیتر خون از ورید پیش بازویی بیماران گرفته شد. سپس نمونه های خونی به منظور جداسازی سرم با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه (RPM) به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم های استخراج شده جهت آنالیزهای آزمایشگاهی و اندازه گیری شاخص های مورد نظر، در ظرف های نمونه گیری ایندروپ (Sampler Tip) توزیع و بلافاصله در فریز ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد و جهت بررسی متغیرهای تحقیق به آزمایشگاه های تخصصی ارسال گردید.

نحوه حذف RNA از میکروتیوب ها و سر سمپلرها

تمامی سرسمپلرها و میکروتیوب ها مورد استفاده برای استخراج mircroRNAs بصورت overnight در محلول DEPC با غلظت یک دهم در صد قرار داده شد و سپس با استفاده از آون در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپلمرها و میکروتیوب ها در دو مرحله به طور برنامه ریزی شده اتوکلاو گردیدند.

استخراج mircroRNAs از گردش خون

به منظور استخراج میکروRNA از کیت استخراج ایرایزول آر ان آ، تولید شده توسط شرکت زیست فن آوران رنا (با کد دسترسیRB1001) و مطابق دستورالعمل زیر استفاده شد. ضمنا جهت بررسی سطوح میکرو RNA نیز روش RT steam –loop house keeping مورد استفاده قرار گرفت.

در ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر از خون و ۱ میلی‌لیتر از بافر ایرایزول (Iraysol Buffer) را با یکدیگر مخلوط کرده تا به رنگ صورتی درآمده و محلول همگنی حاصل شود. سپس

محلول میکس شده به میکروتیوب ۲ میلی‌لیتر منتقل گردیده و به طور ثابت به مدت ۵ دقیقه در معرض دمای محیط قرار داده شد. پس از اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر کلروفورم، و تکان دادن آن به مدت ۱۰ تا ۱۵ ثانیه، این مجموعه مجددا به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط رها شد. سپس تیوپ حاوی محلول میکس شده با سرعت ۸۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید.

با اتمام سانتریفیوژ، بخش شفاف رویی که حاوی RNA بود از محلول جدا شده و به داخل تیوپ دیگری منتقل شد. پس از اضافه کردن ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۱۰۰٪ سرد و قرار دادن آن به مدت ۸ دقیقه در داخل فریزر با دمای ۲۰- ، تیوپ مذکور مجددا سانتریفیوژ گردید. در پایان این مراحل، پس از خارج کردن اتانول و خشک کردن محتوای داخل تیوپ با جریان هوای خشک، مقدار ۵۰-۲۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر شده توسط پیپت به آن اضافه گردیده و بدین ترتیب RNA داخل تیوپ حل شد.

جهتDNA زدایی از RNA استخراج شده، پس از افزودن آنزیم DNase I، مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در انکوباتور در معرض گرمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد و رشته های DNA از آن حذف گردید. سپس جهت تایید کیفیت RNA، نمونه به دست آمده مجددا بر روی ژل ۱ درصد آگاروز آنالیز شد.

نحوه سنتز miRNA

مطابق جدول (۱)، سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA خریداری شده از شرکت زیست فن آوران رنا انجام گرفت. پس از اتمام فرایند و به دست آمدن چرخه-های آستانه (ct)، سنجش بیان متغیرهای مورد نظر با استفاده از محاسبه ریاضی انجام شد. ΔCt هر نمونه با کسر Ct ها از کنترل داخلی (miR-139-5p) و miRNA محاسبه شد(۱۴). سپس با کم کردن ΔCt هر نمونه از میانگین ΔCt گروه کنترل، ΔΔCt مربوط به آن نمونه تعیین شده و در نهایت از رابطه ریاضی جهت گزارش تغییرات کمی متغیرها استفاده گردید.

جدول ۱.توالی پرایمرهای MicroRNAs مورد بررسی

نام پرایمر	توالی پرایمر از پایگاهmiRBase
miR-155	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG
miR-21	GAGGUUUUCUGGGUUUCUGUUUC
miR-139-5p	UCUACAGUGCACGUGUCUCCAGU

ملاحظات اخلاقی

توجیه کلیه شرکت کنندگان در زمینه اهداف پژوهش و اطمینان دادن به آنها در خصوص استفاده صرف از اطلاعات به دست آمده در راستای اهداف مطالعه، عدم ذکر مشخصات هویتی و محرمانه ماندن اسامی، نشانی و شماره تلفن های آنان، داشتن حق کناره‌گیری از پژوهش در حین اجرای آن و بالاخره اعلام نتایج به دست آمده به آنان در پایان پژوهش، از جمله ملاحظات اخلاقی بود که در این مطالعه رعایت گردید.

روش های آماری

تجزیه تحلیل دادها در این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS، نسخه ۲۰ انجام شد و تجزیه و تحلیل اطلاعات نیز با استفاده از روش های آمار توصیفی و استنباطی انجام گردید. برای توصیف داده های پژوهش، از شاخص های آماری همچون میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها، آزمون شاپیرو ویلک (shapiro-wilk Test) و جهت بررسی همگنی واریانس‌ها، آزمون لوین(Leven Test) به کار گرفته شد. ضمنا با توجه به معنادار بودن آزمون‌ها، برای بررسی تفاوت‌های بین گروهی از آزمون t وابسته، تحلیل واریانس (ANOVA) و تحلیل کوواریانس (ANCOVA) به همراه آزمون تعقیبی بنفرونی (Bonferroni) استفاده

شد. نتایج آزمون ها نیز با سطح معناداری (P≤ ۰/۰۵) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج آمار توصیفی داده ها در جدول ۲ آورده شده است. نتایج تحلیل کوواریانس و آزمون تعقیبی متغیر ها نیز در جداول ۳ تا ۶ آورده شده است .

جدول ۲ . تغییرات سطوح متغیرهای پژوهش در گروههای مختلف قبل و پس از اجرای پروتکل ها.

شاخص	زمان/ گروه	کنترل	آب انار	تمرین	تمرین + آب انار
سن (سال)		۵/۲۲±۴۰/۲۵	۴۲/۱۹±۳/۱۱	۴۴/۲۸±۱/۳۶	۴۳/۱±۱/۴۵
قد (سانتی متر)		۱۷۰/۶۳±۴/۳۷	۱۶۸/۵۷±۳/۱۱	۱۷۰/۵۲±۳/۷۷	۱۷۱/۶۸±۴/۵۵
وزن(کیلوگرم)	پیش آزمون	۶۴/۵۸±۳/۵۴	۶۵/۶۶±۳/۵۴	۶۶/۷۱±۲/۹۶	۶۷/۲۹±۳/۲۲
	پس آزمون	۶۵/۷۸±۳/۶۵	۶۳/۲۹±۳/۷۷	۶۲/۵۴±۳/۱۱	۶۱/۸۷±۱/۶۶
شاخص توده بدنی	پیش آزمون	۲۲/۱۸±۱/۲۲	۲۳/۷۷±۱/۶۶	۲۲/۸۱±۱/۵۵	۲۲/۹۳±۱/۹۲
(کیلوگرم بر وزن)	پس آزمون	۲۲/۵۵±۱/۸۴	۲۳/۳±۱/۴۱	۲۱/۴۴±۱/۵۷	۲۰/۱۱±۱/۱۱
حداکثر اکسیژن مصرفی	پیش آزمون	۲۵/۲۹±۲/۵۸	۲۵/۶۶±۲/۷۷	۲۵/۹۲±۲/۵۸	۲۶/۱±۲/۲۲
(**ml/kg/min**)	پس آزمون	۲۵/۲۶±۲/۵۲	۲۵/۷۱±۲/۷۹	۲۸/۲۱±۱/۳۵	۳۰/۱۱±۲/۹۵
miR-21	پیش آزمون	۲/۷۸±۰/۹۵	۲/۹۱±۱/۰۴	۳/۰۵±۱/۱۶	۲/۷۵±۰/۷۸
	پس آزمون	۲/۹۶±۰/۸۸	۱/۸۵±۰/۸۳	۱/۱۱±۰/۸۰	‡۰/۴۰±۰/۱۱
miR-155	پیش آزمون	۱۲/۴۷±۳/۲۳	۱۱/۹۵±۳/۴۸	۱۱/۱۹±۳/۵۴	۱۰/۸۱±۳/۲۰
	پس آزمون	۱۲/۴۷±۳/۲۳	۱۱/۹۵±۳/۴۸	۱۱/۱۹±۳/۵۴	‡۱۰/۸۱±۳/۲۰

*p<0/05.**p<0/01

جدول۳. نتایج آزمون تحلیل کوواریانس تاثیر تمرین و آب انار بر سطوح miR-21 زنان بهبود یافته از سرطان پستان

منبع	میانگین مجذورات	F	سطح معنی داری	نتیجه	اندازه اثر	توان آزمون
miR-21.pre	۷/۰۵	۲۰/۳۷	۰/۰۰۰۱	**	۰/۳۶۸	۰/۹۹۲
تمرین	۲۷/۹۳۰	۸۰/۶۸	۰/۰۰۰۱	**	۰/۶۹۷	۱
آب انار	۷/۵۱	۲۱/۷۰	۰/۰۰۰۱	**	۰/۳۸۳	۰/۹۹۵
تمرین –آب انار	۰/۸۴۸	۲/۴۵۰	۰/۱۲۷	--	۰/۰۶۵	۰/۳۳۱

*p<0/05.**p<0/01

نتایج تحلیل کوواریانس نشان داد تغییرات سطوح miR-21 زنان بهبود یافته از سرطان پستان در هر سه گروه تمرین هوازی، آب انار و تمرین – آب انار معنی دار بوده و اندازه اثر تمرین هوازی بیشتر است .

جدول ۴. نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی بر تغییرات miR-21

متغیر		گروه	تغییرات میانگین	سطح معناداری
miR-21 (fold change)	کنترل (**M**=۲/۹۶)	آب انار	۱/۱۶	۰/۰۰۱
		تمرین	۱/۹۶	۰/۰۰۰۱
		تمرین-آب انار	۲/۵۳	۰/۰۰۰۱
	تمرین (**M**=۱/۱۱)	آب انار	- ۰/۸۰	۰/۰۲۶
		تمرین- آب انار	۰/۵۷	۰/۲۲۱
	آب انار (**M**=۱/۸۵)	تمرین – آب انار (**M**=۰/۴۰۶)	۱/۳۷	۰/۰۰۰۱

تحلیل آزمون تعقیبی یافته ها (بنفرونی) نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی به همراه مصرف آب انار باعث کاهش معنادار در سطح سرمی miR-21 (P=۰/۰۰۰۱) نسبت به کنترل در زنان بهبود یافته از سرطان پستان گردید. همچنین نتایج نشان داد که انجام هشت هفته تمرین هوازی تنها بدون مصرف آب انار و آب انار تنها نیز می تواند باعث کاهش معنادار در سطح سرمی miR-21 (P=۰/۰۰۰۱) در زنان بهبود یافته از سرطان پستان شود.

جدول۵. نتایج آزمون تحلیل کوواریانس تاثیر تمرین و آب انار بر سطوح miR-155 زنان بهبود یافته از سرطان پستان

منبع	میانگین مجذورات	F	سطح معنی داری	نتیجه	اندازه اثر	توان آزمون
miR-155.pre	۲۸۰/۳۱	۲۳۷/۷۱	۰/۰۰۰۱	**	۰/۸۷۲	۱
تمرین	۶۳/۳۳	۵۳/۷۰	۰/۰۰۰۱	**	۰/۶۰۵	۱
آب انار	۳۰/۱۴	۲۶/۵۶	۰/۰۰۰۱	**	۰/۴۲۲	۰/۹۹۸
تمرین –آب انار	۰/۱۲۵	۰/۱۰۶	۰/۷۴۷	--	۰/۰۰۳	۰/۰۶۲

*p<0/05.**p<0/01

نتایج تحلیل کوواریانس نشان داد که تغییرات سطوح miR-155 در زنان بهبود یافته از سرطان پستان در هر سه گروه تمرین هوازی، آب انار و تمرین – آب انار معنادار بوده و اندازه اثر تمرین هوازی بیشتر است.

جدول ۶. نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی بر تغییرات miR-155

متغیر	گروه	تغییرات میانگین		سطح معناداری
miR-155 (fold cheng)	کنترل (**M**=۱۲/۴۹)	آب انار	۱/۸۵	۰/۰۰۳
		تمرین	۲/۶۷	۰/۰۰۰۱
		تمرین-آب انار	۴/۳۰	۰/۰۰۰۱
	تمرین (**M**=۸/۷۶)	آب انار	- ۰/۸۲	۰/۶۰
		تمرین- آب انار	۱/۶۲	۰/۰۱۲
	آب انار (**M**=۱۰/۲۱)	تمرین – آب انار (**M**=۶/۸۱)	۲/۴۵	۰/۰۰۰۱

تحلیل آزمون تعقیبی یافته ها (بنفرونی) نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی به همراه مصرف آب انار در زنان بهبود یافته از سرطان پستان باعث کاهش معنادار در سطح سرمی miR-155 (P=۰/۰۰۰۱) و افزایش معنادار در میزان حداکثر اکسیژن مصرفی(VO2PEAK) نسبت به گروه کنترل گردید. همچنین نتایج نشان داد که انجام هشت هفته تمرین هوازی بدون مصرف آب انار نیز می تواند باعث کاهش معنادار در سطح سرمی miR-155 (P=۰/۰۰۰۱) در زنان بهبود یافته از سرطان پستان شود.

بحث و نتیجه‌گیری

هدف این پژوهش مطالعه هشت هفته تمرین هوازی و مصرف آب انار بر تغییرات برخی microRNAs مرتبط با سیستم اکسایشی/ ضداکسایشی زنان بهبود یافته از سرطان پستان بود. نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی همراه با مصرف آب انار باعث کاهش معنی دار میزان miR-21 در زنان بهبود یافته از سرطان پستان گردید. همچنین مصرف آب انار تنها به مدت هشت هفته نیز موجب کاهش معنی دار miR-21 در زنان بهبود یافته از سرطان پستان شد. اما نتایج توصیفی داده ها مبین آن بود که با وجود کاهش معنی دار miR-21 در گروههای تمرین هوازی و مصرف کننده آب انار، بیشترین میزان کاهش مربوط به گروهی بوده است که تمرین هوازی و مصرف آب انار را به صورت توام انجام داده اند.از سوی دیگر نتایج تحلیل کوواریانس و شاخص اندازه اثر نیز نشان دادند که اندازه اثر تمرین در تغییرات مذکور بیشتر از آب انار بوده است.

بطورکلی، miR-21 به عنوان یک انکومیر معمولی در نظر گرفته می شود که با مهار بیان فسفاتازها، فعالیت مسیرهای سیگنالینگ مانند AKT و MAPK را محدود

می کند. مطالعات متعددی یافته های پژوهش حاضر در خصوص miR-21 را تایید کرده و اثبات کننده ارتباط این miR با مراحل بالینی پیشرفته سرطان، متاستاز تومور و پیش آگهی ضعیف بیماران می باشند. به عنوان نمونه پژوهش‌های ژو و همکاران (۳۵) و کیوئی و همکاران (۳۶)، نشان دادند که miR-21 چندین ژن مرتبط با رشد تومور و متاستاز از قبیل تروپومیوزین سرکوبگر تومور۱ (TP M1)، ژن مسئول مرگ برنامه ریزی شده سلولی ۴ (PDCD4)، مهار کننده متالوپپتیداز ۳ (TIMP3) و فسفاتاز و تنسین همولوگ (PTEN) را هدف گرفته و موجب تضعیف عملکرد آنها می شود.

بیان بیش از حد miR-21 در سلولهای تومور می تواند عملکرد آنها را در سرکوب آپوپتوز و مرگ سلولی را کاهش داده و از طریق تنظیم ژن های هدف و تعدیل مسیر پایین دست آنها، موجب افزایش قابلیت تهاجمی تومور و متاستاز آن شود. در مقابل کاهش بیان این میکرو RNA می تواند نقش آن در روند سرطان زایی را تضعیف کند. مطالعات اخیر میزان بالایی از miR-21 را در سرم بیماران بهبود یافته از سرطان پستان نشان داده است (۲۰-۲۱). افزایش بیان آن در انواع دیگر بدخیمی ها از جمله گلیوبلاستوما، سرطان تخمدان، سرطان ریه و سرطان کولورکتال نیز مشاهده شده است.

مطابق نتایج منتشره از یک متاآنالیز در سال ۲۰۱۴، miR-21 به عنوان نشانگر زیستی سرطان در بیشتر از ۳۶ مطالعه جهت بررسی بدخیمی‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته و این موضوع تایید کننده پتانسیل بالای این میکروRNA به عنوان یک ابزار تشخیصی جهت تشخیص زودرس انواع سرطان بوده و توجیه کننده نتایج پژوهش حاضر می باشد (۳۷).

نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی همراه با مصرف آب انار باعث کاهش معنی دار بیان miR-155 در زنان بهبود یافته از سرطان پستان گردید. در مقابل نتایج آمار توصیفی بیانگر آن بود که با وجود کاهش معنی دار miR-155 در هر دو گروه تمرین هوازی و مصرف کننده آب انار، بیشترین میزان کاهش مربوط به گروهی بوده است که تمرین هوازی و مصرف آب انار را به صورت همزمان و توام انجام داده اند. از سوی دیگر نتایج تحلیل کوواریانس و شاخص اندازه اثر نشان داد که میزان اثر تمرین در تغییرات miR-155 بیشتر از آب انار بوده است.

miR-155 دارای ۲۰ تا۲۴ نوکلئوتید بوده و همچون miR-21 ، به عنوان یک میر فعال کننده پروتئین‌های آنکوژن شناخته می شود (۲۴). سان و همکاران در تحقیقات خود نشان دادند که miR-155 در افراد بهبود یافته از سرطان پستان در مقایسه با افراد غیر سرطانی دچار افزایش محسوسی می شود (۲۸). در تایید این مطلب، روث و همکاران مشخص کردند که miR-155 موجب گسترش و توسعه تومورهای پستانی شده و در اغلب موارد در بافت توموری پستان افزایش می یابد (۲۵). تاثیر این میکروRNA از طریق کاهش فاکتور رونویسی FOXO3a اعمال می شود. بیان نابجای miR-155 موجب افزایش بقای سلولهای سرطانی و بالا بردن میزان مقاومت این سلول‌ها نسبت به شیمی درمانی شده و کاهش بیان miR-155 می تواند حساسیت سلول نسبت به شیمی درمانی را تقویت کرده و آپوپتوز را تسریع نماید (۳۸).

واقعیت دیگری که قابلیت سرطان‌زایی miR-155 و نتایج این پژوهش را تایید می کند، آن است که این میکرو RNA قادر است ژن سرکوب کننده سیگنالینگ سیتوکین ۱ (SOCS1) را هدف قرار داده و آن را غیر فعال نماید. با توجه به آن که محرکهای التهابی باعث افزایش miR-155 و فعال شدن STAT3 (مبدل سیگنال و فعال کننده رونویسی شماره۳) در سلولهای سرطانی پستان می شوند، می توان آن را به یک ارتباط عملکردی احتمالی بین بروز التهاب و ابتلا به سرطان ناشی از miR-155 منسوب کرد.

ضمنا گزارش شده است که کاسپاز -۳ که یک سرکوبگر قوی آپوپتوز است، یکی دیگر از اهداف miR-155 بوده و از این طریق نیز می تواند به بروز سرطان کمک نماید (۳۹). تکثیر سلول های سرطانی از طریق توقف مهار miR-21 و miR-155 بر روی ژن های هدف همانندSMARCA4 ,ANP32A, LRRF1P1 SPR2و PTEN روند افزایشی قابل توجهی پیدا می کند. این اتفاق همچنین با کاهش سطح پروتئین های موجود در ترکیبات کلیدی مسیرهای پیام رسانی مرتبط با تکثیر همانند κB-NF و Ras نیز همراه می باشد. به طور همسان، مهار این miRNA ها می تواند با هدف گرفتن ژن های TAp63, PDCD4 و HNRPK باعث افزایش سطح کاسپازها و نیز افزایش آپوپتوزیس شده و به طور همزمان با کاهش سطح بیان RECK و TIMP3 که وظیفه ثابت نگه داشتن سطح پروتئین های ماتریکس متالوپروتئین ها را در حالت نرمال به عهده دارند، بیان سلول های سرطانی را تحت کنترل قرار می دهد (۴۰).

پژوهش های مختلفی اثبات کرده‌اند که ترکیبات طبیعی مختلفی مثل کورکومین، رزوراترول، پلی فنل ها، کوئرستین و سیلی بینین قادرند روی بیان miRNA ها تاثیر گذاشته و از این طریق اثرات حمایتی در فرآیندهای بیولوژیک مختلف منجمله سرطان زایی از خود به جا بگذارند. گزارش‌ها نشان می دهد آب انار نیز با داشتن میزان متنابعی از این ترکیبات، خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی قوی داشته و می تواند از طریق کاهش رادیکال های آزاد، افزایش بیان آنزیم های آنتی اکسیدانی یا تحریک فاکتور رونویسی آنتی اکسیدانی Nrf-2 باعث تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن در شرایط استرس اکسایشی شود.

آب انار قادر است از طریق مهار فاکتور κβ-NF از بروز التهاب جلوگیری کند. البته اثرات ضد سرطانی آب انار از طرق دیگری همچون القای آپوپتوز و مهار فاکتورهای رشد نیز به اثبات رسیده است. تحقیقات دیگر نشان داده‌اند که آب انار می تواند از طریق افزایش PTEN (یکی از محرک-های آپوپتوز)، توقف چرخه سلولی و کاهش پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl2 و miR-21 باعث القای آپوپتوز و توقف چرخه تقسیم سلولی در سلول های سرطان سینه شود. اثرات ضد سرطانی آب انار همچنین از طریق افزایش پروتئین های آپوپتوزی مثل BAX و خانواده CASPAS، تحریک سرکوب کننده تومور P53 و کاهش پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl2 و فاکتورهای آنژیوژنز مانند VEDGF و Angiopoietin-2 نیز به اثبات رسیده است (۱۲،۱۴،۴۲).

در این پژوهش بیان چند نمونه از mRNA های مورد هدفmiR-21 و miR-155 مثل caspase-9، P53، BID و APAF-1، طی درمان با سیلی بیین افزایش یافت. این مواد در فرآیند آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری و تشکیل کمپلکس آپوپتوز نقش فعالی ایفا می کنند. پژوهش ملکی زاده و همکاران نیز تایید کننده این موضوع بوده و نشان داد که تجویز 100mL/µg سیلی بینین، بیانmiR-21 و miR-155 را در سلولهای سرطان سینه رده MCF-۷ به طور چشمگیری کاهش می دهد. در همین ارتباط جهان فروز و همکاران نیز نشان دادند که انکوباسیون سلول های سرطان سینه رده های MCF-7 و T47D با سیلی بینین ۱۵۰ µM، باعث کاهش بیان miR-21 شده و همچنین موجب افزایش PTEN در سلولهایMCF-7 و کاهش Bcl2 در هر دو رده می گردد. قابل ذکر است که PTEN به عنوان یک سرکوب کننده تومور شناخته می شود که از طریق مهار مسیر پیام رسانی AKT / PKB تاثیر منفی بر تقسیم سلولی داشته و بروز جهش در آن در بسیاری از سرطان ها دیده شده است.

بدین ترتیب با توجه به نتایج بیان شده می توان استنباط نمود که انجام تمرین هوازی و مصرف آب انار از طریق مهار و یا کاهش بیان miR-21 و miR-155 اثرات مطلوبی در سرکوب تومور داشته باشد. مطالعه بابا زاده و همکاران نیز تایید کننده این موضوع است. آنان نشان دادند که بیان miR-21 در بیماران مبتلا به سرطان سینه سه برابر بیشتر از افراد غیر سرطانی بوده و miR-155 می تواند با مهار سرکوب کننده های تومور مثل SOCS-1 و RAD-51 باعث رشد تومور و مهار ترمیم DNA شود (۴۲).

به عنوان نتیجه گیری کلی می توان گفت که هشت هفته تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل آب انار باعث کاهش میکرو RNA های انکوژن مرتبط با عوامل اکسایشی/ ضداکسایشی مثل miR-21 و miR-155 در زنان بهبود یافته از سرطان پستان شد. از آنجایی که تاکنون هیچ مطالعه‌ای به بررسی تاثیر همزمان مصرف آب انار و تمرینات هوازی بر فاکتورهای موثر در گسترش سلول های سرطانی نپرداخته است، مسلما کسب اطمینان در مورد نتایج این تحقیق نیازمند بررسی های بیشتری خواهد بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکترای فیزیولوژی ورزشی بابک روزبهان دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران می باشد که اجرای پروتکل های آن با استفاده از کد اخلاق IR.GOM.IEC.1399.001 صادره از کمیته اخلاق دانشگاه قم و کد کارآزمایی بالینی IRCT20200726048213N1 صادره از مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران (IRCT) امکان پذیر گردید. بدینوسیله از تمامی زنان بهبود یافته از سرطان پستان که به عنوان نمونه های شرکت کننده در این پژوهش به ما یاری رساندند، تشکر و قدردانی می گردد.

References

1. Sadeghi B. Prediction of MicroRNAs (miRNAs) Targets in Breast Cancer Using Bioinformatics Methods. Journal of Health and Biomedical Informatics. 2016;3(1):18-2. (In Persian)
2. Isfahani P, Arefy M, Shamsaii M. Prevalence of severe depression in Iranian women with breast cancer: a meta-analysis. Depression research and treatment (online published). 2020; 2020: 5871402.
3. 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. (In Persian)
4. Nelson NJ. Migrant studies aid the search for factors linked to breast cancer risk. Journal of the National cancer Institute. 2006;98(7):436-8.
5. Chekachak S, MolanouriShamsi M, Soudi S. Investigating The Effect of Aerobic Interval Training with Selenium Nanoparticles on the Content of IL-6, TNF-α and IL-4 cytokines in spleen tissue of Mice with Breast Cancer. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2018;8(1):608-17. (In Persian)
6. Aldini G, Yeum K-J, Niki E, Russell RM. Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage: principles and practical application. First ed. Blackwell Publishing. 2010;pp:21-31.
7. Bayat CE, Fallahadeh H, Askari G, Rahavi R, Maghsoudi Z, Nadjarzadeh A. The effect of pomegranate juice supplementation on muscle damage, oxidative stress and inflammation induced by exercise in healthy young men. Journal of Isfahan medical school. 2015;32: 2464-2472. (In Persian)
8. Shahar S, Salleh RM, Ghazali AR, Koon PB, Mohamud W. Roles of adiposity, lifetime physical activity and serum adiponectin in occurrence of breast cancer among Malaysian women in Klang Valley. Asian Pac J Cancer Prev. 2010; 11(1):61-6.
9. Repka CP, Hayward R. Oxidative stress and fitness changes in cancer patients after exercise training. Med Sci Sports Exerc. 2016;48(4):607-14.
10. Porock D, Kristjanson LJ, Tinnelly K, Duke T, Blight J. An exercise intervention for advanced cancer patients experiencing fatigue: a pilot study. Journal of palliative care. 2000;16(3):30-6.
11. Akbarpour M, Fathollahi Shoorabeh F, Mardani M, Amini Majd F. Effects of Eight Weeks of Resistance Training and Consumption of Pomegranate on GLP-1, DPP-4 and Glycemic Statuses in Women with Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial. Nutrition and Food Sciences Research. 2021;8(1):5-10.
12. Takemura H, Sakakibara H, Yamazaki S, Shimoi K. Breast cancer and flavonoids -a role in prevention. Current pharmaceut-ical Design. 2013;19(34):6125-32.
13. Zarban A, Malekaneh M, Boghrati M. Antioxidant properties of pomegranate juice and its scavenging effect on free radicals. Journal of Birjand University of

Medical Sciences. 2007;14(3):9-1. (In Persian)
14. Shadmanfard A, Nemati A, Naghiza- deh Baghi A, Mazani M. The effect of pomegranate juice supplementa- tion on oxidative stress in young healthy males .J Ardabil Univ Med Sci. 2012;12(5) :77-86. (In Persian)
15. Montano M. Micro RNAs: miRRORS of health and disease. Translational research. 2011;157(4):157-62.
16. Schaefer A, Jung M, Kristiansen G, Lein M, Schrader M, Miller K, et al., editors. MicroRNAs and cancer: current state and future perspectives in urologic oncology. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations.2010; 28(1):4-13
17. Mohammadi E, Rahgozar S, Ghaedi K. MicroRNAs, Structure, Function and Implication For Cancer. Genetics In The 3RD Millennium, 2011: 9 (3): 2489 -2498
18. Nilsen TW. Mechanisms of micro RNA-mediated gene regulation in animal cells. TRENDS in Genetics. 2007;23(5): 243-9.
19. Negrini M, Nicoloso MS, Calin GA. MicroRNAs and cancer—new paradigms in molecular oncology. Current opinion in cell biology. 2009;21(3):470-9.
20. Badr FM. Potential role of miR-21 in breast cancer diagnosis and therapy. Biotechnology and Bioengineering 2016; 3(5):1068-75.
21. Wang F, Zheng Z, Guo J, Ding X. Correlation and quantitation of microRNA aberrant expression in tissues and sera from patients with breast tumor. Gynecologic oncology. 2010;119(3):586-93.
22. Asaga S, Kuo C, Nguyen T, Terpen- ning M, Giuliano AE, Hoon DS. Direct serum assay for microRNA-21 concentrations in early and advanced breast cancer. Clinical chemistry. 2011; 57(1):84-91.
23. Zhu S, Wu H, Wu F, Nie D, Sheng S, Mo Y-Y. MicroRNA-21 targets tumor suppressor genes in invasion and metastasis. Cell research. 2008;18(3):350-9.
24. Li M, Li J, Ding X, He M, Cheng S-Y. microRNA and cancer. The AAPS journal. 2010;12(3):309-17.
25. Roth C, Rack B, Müller V, Janni W, Pantel K, Schwarzenbach H. Circulating microRNAs as blood-based markers for patients with primary and metastatic breast cancer. Breast Cancer Research. 2010;12(6):1-8.
26. Chen J, Wang BC, Tang JH. Clinical significance of MicoRNA-155 expression in human breast cancer. Journal of surgical oncology. 2012; 106(3):260-6.
27. Hafez MM, Hassan ZK, Zekri ARN, Gaber AA, Rejaie SSA, Sayed-Ahmed MM, et al. MicroRNAs and metastasis-related gene expression in Egyptian breast cancer patients. Asian Pacific journal of cancer prevention. 2012;13(2):591-8.
28. Sun Y, Wang M, Lin G, Sun S, Li X, Qi J, et al. Serum microRNA-155 as a potential biomarker to track disease in breast cancer. Plos one J. 2012;7(10):1-8.
29. Irwin ML. ACSM's guide to exercise and cancer survivorship: Human Kinetics. American college of sports medicine. 2012:pp164-186.

30. Kent M. Oxford dictionary of sports science and medicine. Oxford University Press. Third ed. 2006:pp114
31. Khoramjah M, Khorshidi D, Karimi M. Effect of moderate-intensity aerobic training on some hormonal and metabolic factors associated with breast cancer in overweight postmenopausal women. Iranian Journal of Ageing. 2019;14(1):74-83. (In Persian)
32. Shiravand F, Valipour V, Abbasi M. The effect of 8 weeks of HICT training on serum levels of catalase, malondialdehyde and maximal oxygen consumption in breast cancer survivors: Randomized clinical trial. KAUMS Journal (FEYZ). 2019;23(4):398-406 (In Persian)
33. Le Quesne J, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. Molecular oncology. 2010;4(3):230-41.
34. Zhu S, Si M-L, Wu H, Mo Y-Y. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1). Journal of Biological Chemistry. 2007;282(19):14328-36.
35. Qi J, Wang J, Katayama H, Sen S, Liu S-m. Circulating microRNAs (cmiRNAs) as novel potential biomarkers for hepatocellular carcinoma. Neoplasma. 2013;60(2):135.
36. Wang W, Luo Y-p. MicroRNAs in breast cancer: oncogene and tumor suppressors with clinical potential. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B. 2015;16(1):18-31.
37. Kong W, He L, Coppola M, Guo J, Esposito NN, Coppola D, et al. MicroRNA-155 regulates cell survival, growth, and chemosensitivity by targeting FOXO3a in breast cancer. Journal of Biological Chemistry2016;291(43):22855
38. Jiang S, Zhang H-W, Lu M-H, He X-H, Li Y, Gu H, et al. MicroRNA-155 functions as an OncomiR in breast cancer by targeting the suppressor of cytokine signaling 1 gene. Cancer research. 2010; 70(8):3119-27.
39. Babazadeh M, Zolfaghary MR, Shirian S, Ghaemi A. Pathogenic and Therapeutic Role of MicroRNAs in Glioblastoma Multiform. Neuroscience Journal of Shefaye Khatam. 2020;8(2): 107-18. (In Persian)
40. Akbari Kordkheyli V, Nabipur E, Tafazoli A, Bagheri A. An overview on the effects of silibinin on different microRNAs expression in cancer. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2018;28(165):213-29. (In Persian)

The effect of aerobic training and pomegranate juice on serum levels of some microRNAs related to the oxidant/antioxidant system in women recovering from breast cancer

Rouzbehan B[1], Abednatanzi H[2*], Ebrahim Kh[3], Ghazalian F[2]

1. Ph.D. Student of Exercise Physiology, Department of Professional Physical Education and Sports Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Professional Physical Education and Sports Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, abednazari@gmail.com

3.Professor, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Shaheed Beheshti University, Tehran, Iran

Received: *27 July 2021* Accepted: *27 Sep 2021*

Abstract

***Background*:** Breast cancer is one of the most common cancers and the first leading cause of cancer death (25.5%) among women across the world. Oxidative stress and overproduction of free radicals are among the most important reasons for the progression of cancers. This study aimed to investigate the effect of eight weeks of aerobic exercise with pomegranate juice on Serum microRNAs levels related to the oxidant/antioxidant system of women recovering from breast cancer.

Materials and Methods: In this semi-experimental study, 40 women recovering from breast cancer with a mean age of 42.45±1.95 were randomly assigned into four equal groups (n=10), including control, pomegranate juice, aerobic exercise, and aerobic-pomegranate. The aerobic and aerobic-pomegranate groups performed eight 60-90-min sessions of exercises three times a week with an intensity of 50% to 70% of the target heart rate. The pomegranate juice group received 100 cc of juice before each training session. Blood samples were collected 48 h before and after the intervention. Oncogenic microRNAs, such as miR-21 and miR-155, were assayed by RT-PCR. The obtained data were analyzed using one-way ANOVA, ANCOVA, and Bonferroni post hoc test at a significance level of P≤0/05.

Results: In total, eight weeks of aerobic exercise with the consumption of pomegranate juice caused a significant decrease in miR-21 (P=0.001) and miR-155 (P=0.001) levels in women recovering from breast cancer, compared to the control group.

Conclusion: Aerobic exercise and consumption of pomegranate juice simultaneously reduced oncogene microRNAs, such as miR-21 and miR-155, in women recovering from breast cancer.

Keywords: Aerobic exercise, Antioxidants, Breast cancer, microRNA, Pomegranate juice.

Citation: Rouzbehan B, Abednatanzi H, Ebrahim Kh, Ghazalian F. The effect of aerobic training and pomegranate juice on serum levels of some microRNAs related to the oxidant / antioxidant system in women recovering from breast cancer. Yafte. 2021; 23(4):133-148.