

# بیان انتقال دهنده‌های لاکتات در تومور موش‌های بالب سی مبتلا به سرطان سینه متعاقب تمرین استقامتی

ملیحه آوسه، روح الله نیکویی\*، محسن امینایی

گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۷

## چکیده:

زمینه و هدف: تغییر در متابولیسم سلول‌های سرطانی نقش عمده‌ای در زنده ماندن و گسترش آن‌ها دارد. هدف این مطالعه بیان انتقال دهنده‌های لاکتات در تومور موش‌های بالب سی مبتلا به سرطان سینه متعاقب تمرین استقامتی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی تعداد ۲۵ سر موش ماده نژاد بالب سی به طور تصادفی به ۲ گروه کنترل سرطان سینه و تمرینی سرطان سینه تقسیم شدند. سرطان از طریق تزریق سلول سرطانی MC4L2 در پد چربی پستان موش ایجاد شد و پروتکل تمرین استقامتی به مدت ۷ هفته بر گروه تجربی اعمال گردید. حجم تومور با کالپر میکرودیجیتال و بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۱، مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۴ و CD147 در تومور به وسیله تکنیک وسترن بلات اندازه گیری شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری تی دانشجویی و پیرسون تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بعد از ۷ هفته تمرین استقامتی کاهش معنی‌داری در وزن، میزان بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۱ و CD147 تومور در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل یافت شد. بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۴ و حجم تومور بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ). بین بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۱ و CD147 تومور ارتباط معنی‌داری وجود داشت ( $p < 0.05$ ) در حالی که این رابطه بین بیان مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۴ و CD147 در تومور معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی با کاهش بیان انتقال دهنده‌ی لاکتات می‌تواند متابولیسم لاکتات در سلول‌های سرطانی را کاهش دهد و به عنوان یک ابزار مفید در درمان یا جلوگیری از سرطان سینه عمل نماید.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، سرطان سینه، لاکتات، مونوکربوکسیلات ترانسپورترها

\*نویسنده مسئول: روح الله نیکویی، کرمان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی  
Email: r\_nikooie@uk.ac.ir



## مقدمه

سرطان سینه<sup>(۱)</sup> بیماری رایج و یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در زنان است. عوامل درگیر در این بیماری شامل؛ ژنتیک، سابقه فامیلی، سطح هورمونی استروژن و پروژسترون، سن شروع قاعدگی، یائسگی بعد از ۵۰ سالگی، اضافه وزن و چاقی و مصرف الکل می‌باشند، در کنار این عوامل اثرات منفی زندگی بی‌تحرك و فعالیت بدنی کم (۱) و تأثیرات مفید انجام فعالیت بدنی بر پیشگیری و بهبود سرطان سینه نیز گزارش گردیده است (۲-۴).

تغییر در متابولیسم سلول‌های تومور مهم‌ترین مشخصه این سلول‌ها می‌باشد که به عنوان فاکتوری مهم و تأثیرگذار در پیشرفت سرطان اخیراً مورد توجه زیادی قرار گرفته (۵-۷) و نشان داده شده است که با جلوگیری یا کاهش متابولیسم در سلول‌های سرطانی می‌توان از زنده ماندن و پیشرفت سرطان جلوگیری کرد (۵). تغییر در متابولیسم لاکتات که محصول جانبی گلیکولیز بی‌هوازی است و عمدتاً در شرایط فقدان اکسیژن در بدن تولید می‌شود یکی از راه‌حل‌های سازشی سلول‌های توموری جهت زنده ماندن و گسترش بیشتر است (۵). با توجه به این که گسترش اولیه تومور در محیطی کم عروق شکل می‌گیرد، دو نوع سلول مختلف در تومور دیده می‌شود؛ سلول‌های مجاور عروق که نیازهای انرژی خود را از اکسیداسیون تأمین می‌کنند و سلول‌های دور از عروق که سوخت بی‌هوازی گلوکز را برای تأمین انرژی خود انتخاب می‌کنند (۶). سوخت بی‌هوازی گلوکز در

سلول‌های دور از عروق منجر به تولید لاکتات می‌شود که با خروج آن از این سلول‌ها و ورود به فضای بین سلولی در اختیار سلول‌های مجاور عروق قرار می‌گیرد و تأمین انرژی این سلول‌ها را تضمین می‌کند (۷).

فرآیند انتقال و تبادل لاکتات بین سلول‌های مختلف تومور به وسیله مونوکربوکسیلات ترانسپورترها (MCTs)<sup>(۲)</sup> صورت می‌گیرد. تاکنون ۱۴ ایزوفرم از این انتقال دهنده‌ها در موش و ۹ ایزوفرم در انسان شناسایی شده است (۵) که توزیعی وابسته به بافت دارند (۵). مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۱ (MCT1) و مونوکربوکسیلات ترانسپورتر ۴ (MCT4) دو ایزوفرم مهم از این انتقال دهنده‌ها در سلول‌های سرطانی می‌باشند که هر کدام نقش‌های جداگانه‌ای را در تومور ایفا می‌کنند (۹ و ۸). کم بودن بستر عروقی<sup>(۳)</sup> در سلول‌های توموری دور از عروق سبب اتکای این سلول‌ها به مسیر گلیکولیز بی‌هوازی در تأمین انرژی می‌شود که متعاقب این عمل غلظت درون سلولی لاکتات در این سلول‌ها افزایش می‌یابد (۱۰). این امر سبب افزایش بیان MCT4 در سلول‌های سرطانی می‌شود تا امکان خارج کردن لاکتات تولیدی از سلول امکان‌پذیر باشد (۵). از آنجایی که خروج لاکتات از سلول سرطانی فاکتوری مهم در حفظ فنوتیپ اسیدی و حیات این سلول‌هاست، مطالعاتی که از خاموش

1- Breast Cancer  
2- Monocarboxylate Transporters (MCTs)  
3-Vascularization

کردن ژن MCT4 بهره گرفته‌اند کاهش در رشد تومور را گزارش نموده‌اند (۱۲ و ۱۱).

عوامل متعددی نحوه تنظیم و بیان MCTs را تحت تأثیر قرار می‌دهند. نشان داده شده است که تمرین (۱۵-۱۳) و هایپوکسی (۱۶) باعث افزایش بیان MCTs می‌شوند در حالی که فرایند معکوس با انجام تعلیق عضو<sup>(۱)</sup> (۱۷) و عصب‌زدایی<sup>(۲)</sup> (۱۸) گزارش گردیده است. با وجود این که نقش MCT1 و MCT4 در گسترش و بقای سلول‌های سرطانی مشخص است، لیکن تاکنون مطالعه‌ای اثر تمرین بر بیان MCT1 و MCT4 در تومور را مورد بررسی قرار نداده است.

بیان مناسب MCTs نیاز به یک پروتئین کمکی<sup>(۳)</sup> به نام CD147 دارد (۵) که گلیکو پروتئینی چند منظوره از خانواده ایمونوگلوبولین (Ig) است (۱۹). این ژن که همراه با MCTs کدگذاری می‌شود در سلول‌های سرطان سینه بسیار بیان می‌شود و باعث بیان متالوپروتئیناز ماتریکس خارج سلولی شده و به همراه MCT4 نقش مهمی را در زنده ماندن سلول‌های سرطانی بازی می‌کند (۲۰). در واقع در تحقیقی ثابت شد که سلول‌های سرطانی MDA-MB-236 انسان معمولاً آهسته رشد می‌کنند، در حالی که با تزریق CD147 به آنها یک فنوتیپ پیشرونده را اتخاذ می‌کنند که نشان دهنده شتاب رشد و افزایش تهاجم سلولی است (۲۱). با در نظر گرفتن این امر که سرطان سینه میزان بیان CD147 در تومور بالا می‌رود و به دلیل نقش مهم این پروتئین در تنظیم بیان MCTs، هدف از مطالعه حاضر تعیین تأثیر تمرین استقامتی بر

بیان MCT1، MCT4 و CD147 در تومور موش‌های بالب سی مبتلا به سرطان سینه بود.

### روش بررسی

این مطالعه تجربی بر روی ۵۰ رأس موش ماده نژاد بالب سی در سن ۳ هفتگی با میانگین وزنی  $17/5 \pm 1/3$  گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط هوایی آزمایشگاه تحت سیکل ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی-روشنایی نگهداری شدند، انجام گردید. موش‌ها با غذای مخصوص موش و آب تغذیه شدند. بعد از یک هفته نگهداری و آشناسازی با محیط آزمایشگاه موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه تمرینی (۱۳ سر) و کنترل (۱۲ سر) تقسیم شده و بر اساس وزن هم‌سان‌سازی شدند. مجوز اخلاق جهت انجام تحقیق حاضر از کمیته اخلاقی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان اخذ گردید. کلیه مراحل انجام تحقیق در مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان و به مدت ۱۲ ماه به انجام رسید.

سرطان در تحقیق حاضر از طریق تزریق زیر پوستی سلول سرطانی MC4-L2 در پد چربی پهلوئی راست سینه رت به وجود آمد. رده سلولی مورد نظر از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و سلول‌ها در محیط DMEM با گلوکز بالا، ۱۰ درصد (FCS) سرم جنین گوساله<sup>(۴)</sup> و استرپتومایسین - پنی سیلین ۱ درصد

1-Hind limb Suspension

2-Denervation

3-Chaperonprotein

4-Fetal Calf Serum

تمرین استقامتی به مدت ۷ هفته، پنج روز در هفته بر گروه تمرینی اعمال شد (جدول ۱). تمرینات در هفته اول با دویدن روی تردمیل موش سرعت ۱۵ متر بر ثانیه به مدت ۲۰ دقیقه شروع و در نهایت در هفته هفتم به ۵۵ دقیقه دویدن با سرعت ۲۰ متر بر ثانیه رسید. در دو هفته آخر نیز تمامی متغیرهای تمرینی ثابت نگه داشته شدند تا سازگاری‌های انجام شده در زمان تشریح به حالت یکنواخت خود برسند.

جهت تهیه هموژن از بافت تومور، حدود ۲۰۰ - ۱۵۰ میلی‌گرم از بافت تومور با روش هاون کوبی پودر و به نسبت ۱ به ۵ در بافر لیز کننده RIPA (۵۰ میلی مولار تریس هیدروکلرید (Tris-HCl)، ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلرید (NaCl)، ۱ درصد NP40 (Nonidet P-40)، ۱ درصد سدیم دئوکسیل سولفات (deoxycholate)، ۱۰ درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS)، ۰/۰۱ مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید (PMSF)، ۱ میلی مولار EDTA، pH = ۷/۲) لیز و به طور کامل هموژن شد. محلول حاصله سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه نگهداری و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ rpm، ۴<sup>o</sup> درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش بردفورد<sup>(۱)</sup> و با استفاده از آلبومین سرم گاوی<sup>(۲)</sup> (BSA) به عنوان استاندارد انجام گرفت.

1- Bradford  
2-Bovin Serum Albumin

کشت و تحت شرایط CO<sub>2</sub> ۵ درصد، O<sub>2</sub> ۹۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۲۲). سلول‌های MC4L2 کشت داده شده پس از تریپسینه شدن و شستشو با بافر PBS با لام نئوبار شمارش شدند و جهت القاء سرطان سینه، تعداد ۱/۲×۱۰<sup>۶</sup> سلول در حجم ۱۰۰ میکرولیتر بافر PBS تهیه و به صورت زیرپوستی به ناحیه پد سینه راست موش تزریق شد (۲۳). ۱۰ روز بعد از تزریق، تومور با چشم قابل رؤیت شد. با توجه به این که در ۴ سر از موش‌ها تومور ایجاد نگردید و تعداد ۳ سر موش در طول دوران تحقیق از بین رفتند، اندازه‌گیری نهایی متغیرهای تمرین بر روی ۹ موش از هر گروه انجام گرفت. ده روز پس از تزریق سلول، تومور با چشم قابل مشاهده و ۱۴ روز پس از آن قابل اندازه‌گیری بود. ۱۴ روز پس از تزریق حجم تومور اندازه‌گیری و به عنوان حجم اولیه در نظر گرفته شد. بعد از آن اندازه‌گیری حجم تومور هر هفته دو بار با کالیپر (Mitutoyo ABSOLUTE500-197-20 Digital Caliper, USA) اندازه‌گیری شد. اندازه‌ی تومور با توجه به فرمول زیر محاسبه گردید که فرمولی استاندارد برای اندازه‌گیری تومور می‌باشد (۲۴).

$$\text{عرض} \times \text{طول}^2 \times \pi/6 = \text{حجم تومور}$$

در اندازه‌گیری حجم تومور بیشترین طول قابل اندازه‌گیری به عنوان طول تومور و اندازه‌گیری حاصله در زاویه ۹۰ درجه طول به عنوان عرض تومور در نظر گرفته شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری تی دانشجویی، کلموگروف - اسمیرنف و پیرسون تجزیه و تحلیل شدند.

### یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصله بعد از ۷ هفته تمرین استقامتی وزن نسبی تومور و وزن نسبی قلب بین دو گروه اختلاف معنی‌دار داشت ( $p < 0/05$ ). مقادیر نسبی حجم تومور بین دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ( $p > 0/05$ ) (جدول ۱).

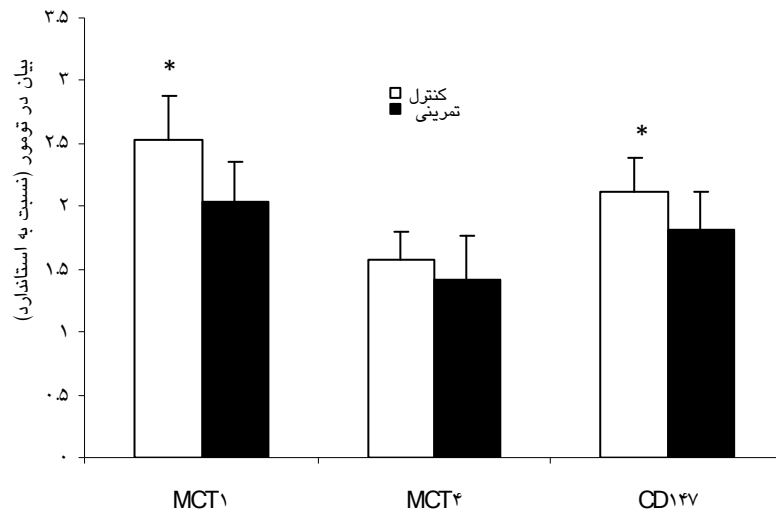
بعد از ۷ هفته تمرین استقامتی، بیان MCT1 در تومور به طور معنی‌دار در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود ( $p < 0/01$ ) (نمودار ۱). علی‌رغم کاهش بیان MCT4 تومور در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). بیان CD147 در تومور به طور معنی‌داری در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود ( $p < 0/05$ ) (نمودار ۱). بین بیان MCT1 و CD147 در تومور ارتباط معنی‌دار یافت شد ( $p < 0/05$ ) (نمودار ۲ الف). ارتباط بین بیان MCT4 و CD147 در تومور معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ) (نمودار الف ۲).

1-Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels electrophoresis  
2-Polyvinylidenedifluoride membrane  
3-Blocking  
4-Densitometric scanning

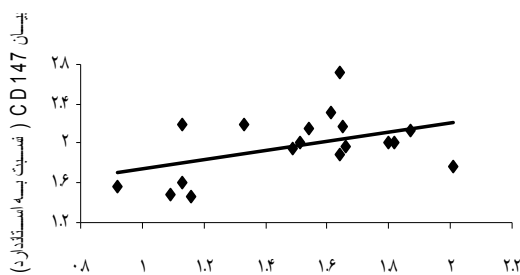
و سترن بلات بدین صورت بود که میزان ۲۰ میکروگرم پروتئین در هر چاهک ریخته شد و جداسازی پروتئین با استفاده از تکنیک SDS-PAGE<sup>(۱)</sup> با ژل ۱۲/۵ درصد انجام شد. پروتئین‌های جدا شده به غشای PVDF<sup>(۲)</sup> با منافذ ۰/۴۵ میکرون انتقال داده شدند. سپس مرحله بلاکینگ<sup>(۳)</sup> غشاء با محلول محتوی ۵۰ میلی مولار تریس هیدروکلرید، ۰/۱ درصد توپین ۲۰ (Tween20)، ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلرید، ۵ درصد اسکیم میلک (Skim milk) pH=۷/۴، به مدت ۱/۵ ساعت خوابانده شد. سپس غشاء در طول شب در محلول محتوی آنتی‌بادی اولیه با غلظت (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) که در بافر محتوی ۱ درصد BSA و ۲ درصد اسکیم میلک رقیق شده بود، قرار گرفت. پس از انجام شستشوی غشاء جهت رفع آنتی‌بادی‌های غیر متصل، غشاء در معرض آنتی‌بادی ثانویه Horse Radish Peroxidase (HRP) قرار گرفت و مجدداً شسته شد. بیان پروتئین با استفاده از روش Enhanced Chemi Luminescence (ECL) اندازه‌گیری شد. غشاء در معرض فیلم رادیوگرافی قرار گرفت و ظهور باندها بر روی فیلم در تاریکخانه به انجام رسید. از تکنیک چگالی‌سنجی<sup>(۴)</sup> چگالی باندها MCT1 و MCT4 تعیین شد و جهت نیمه کمی کردن بیان MCT1 و MCT4 از میزان بیان MCT1 در غشای اریتروسیت استفاده گردید. در این روش میزان باند MCT1 حاصل از ۵ میکروگرم پروتئین Mouse Erythrocyte Ghoste به عنوان مبنا در نظر گرفته شد و بقیه باندها در مقایسه با آن به مقادیر کمی تبدیل شدند (۱۳).

جدول ۲: مقایسه میانگین و انحراف معیار وزن بدن، وزن قلب، وزن تومور در گروه‌های مورد مطالعه

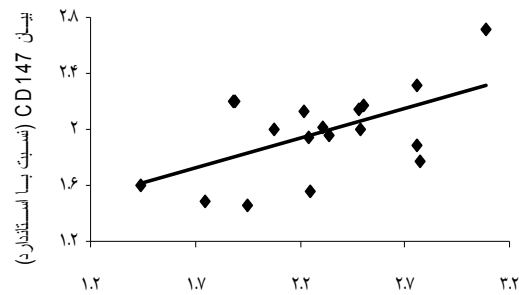
متغیر	کنترل	تمرینی	سطح معنی داری
وزن نسبی قلب (میلی گرم بر گرم)	۵/۷۲ ± ۰/۸۳	۶/۵۴ ± ۰/۳۹	<۰/۰۵
وزن نسبی تومور (میلی گرم بر گرم)	۳۱/۵۷ ± ۴/۸۴	۲۹/۶۰ ± ۲/۶۵	<۰/۰۵
حجم تومور (سانتی متر مکعب بر گرم)	۷۰/۴۰ ± ۱۰/۹۷	۶۷/۳۹ ± ۱۰/۴۵	>۰/۰۵



نمودار ۱: مقایسه بیان MCT1، MCT4، CD147 تومور در گروه‌های کنترل (n=9) و تمرینی (n=9)  
\* اختلاف معنی دار با گروه کنترل (p < 0.05)



بیان MCT4 (نسبت به استاندارد)



بیان MCT1 (نسبت به استاندارد)

نمودار ۲-الف: ارتباط بین بیان MCT1 و CD147 در تومور نمودار ۲-ب: ارتباط بین بیان MCT4 و CD147 در تومور

## بحث

بیان MCT1، MCT4 و CD147 را در شرایط سرطان

سینه مورد بررسی قرار داده است.

در انتهای پروتکل تمرینی گروه تمرینی کاهش

معنی‌دار در وزن نسبی تومور را نسبت به گروه

کنترل نشان دادند. این نتیجه حاکی از مؤثر بودن

پروتکل تمرینی در درمان سرطان سینه در تحقیق

حاضر است. تعیین اثر بخش بودن پروتکل اعمال شده

در تحقیق حاضر با استفاده از مقادیر نسبی وزن قلب

و مقایسه آن بین دو گروه انجام گردید. افزایش

معنی‌دار وزن نسبی قلب در گروه تمرینی حاکی از اثر

بخش بودن پروتکل تمرینی اعمال شده است. پروتکل

تمرینی تحقیق حاضر به گونه‌ای طراحی گردید که

دارای شدتی متوسط باشد، چرا که پدرو و همکاران

نشان داده‌اند که اعمال تمرین با شدت متوسط باعث

کاهش وزن و حجم تومور در موش‌های مبتلا به

سرطان سینه می‌شود (۲۷). سودمندی تمرین با

ویژگی‌های فوق بر کاهش حجم و وزن تومور در

مطالعات پیشین نیز گزارش شده است (۲۸ و ۲۷). در

تحقیق حاضر کاهش معنی‌دار در وزن نسبی تومور

ماحصل کاهش معنی‌دار در بیان MCT1 و CD147

می‌باشد که در زیر به تفصیل بحث شده‌اند. علی‌رغم

کاهش معنی‌دار وزن نسبی تومور، تفاوت حجم نسبی

تومور در انتهای تحقیق بین دو گروه معنی‌دار نبود که

احتمالاً کوتاه بودن پروتکل تمرینی می‌تواند دلیل

احتمالی این موضوع باشد، چرا که نشان داده شده

است که تأثیر تمرین بر حجم تومور در هفته‌های ۱۲

به بعد ایجاد می‌شود (۲۹ و ۲۸).

تغییر در متابولیسم سلول‌های سرطانی که با

اتکای زیاد آن‌ها به متابولیسم لاکتات (محصول جانبی

گلیکولیز بی هوازی) صورت می‌گیرد، یکی از

راه‌حل‌های سازشی سلول‌های توموری جهت زنده

ماندن و گسترش بیشتر آن‌ها است (۵). فرآیند انتقال و

تبادل لاکتات بین سلول‌های مختلف تومور به وسیله

مونوکر بوکسیلات ترانسپورترها (MCTs) صورت

می‌گیرد (۵). عوامل متعددی نحوه تنظیم و بیان MCTs

را تحت تأثیر قرار می‌دهند. مهار فعالیت MCTs در

تومور به عنوان ابزاری درمانی در سرطان سینه در

حال معرفی شدن است. با وجود این که تأثیرات مثبت

تمرینی بر بیان MCTs در شرایط غیر سرطانی

مشخص است (۱۵-۱۳)، لیکن تاکنون مطالعه‌ای تأثیر

تمرین استقامتی بر بیان MCTs تومور را مورد بررسی

قرار نداده است، لذا هدف از این مطالعه بررسی یک

دوره تمرین استقامتی ۷ هفته‌ای به منظور تعیین

تغییرات در بیان MCT1، MCT4، CD147، وزن و حجم

تومور در انتهای دوره تحقیق بود. مهم‌ترین یافته این

تحقیق این بود که MCT1 مهم‌ترین ایزوform از

مونوکر بوکسیلات ترانسپورترها است که وظیفه انجام

تبادل لاکتات در تومور موش‌های بلب سی را انجام

می‌دهد. دیگر یافته تحقیق حاضر این بود که تمرین

استقامتی می‌تواند با کاهش بیان MCT1 و CD147 باعث

کاهش وزن تومور در مقایسه با گروه کنترل شود.

نکته منحصر به فرد تحقیق حاضر این بود که این

اولین مطالعه ای است که تأثیر تمرین استقامتی بر



تمرینی تحقیق حاضر تأثیر تمرین بر بیان MCT1 و MCT4 به عنوان دو ایزوفرم مهم در نقل و انتقال لاکتات در سلول‌های تومور مورد بررسی قرار گرفت. به دنبال اعمال پروتکل تمرینی کاهش معنی‌دار در بیان MCT1 در تومور موش‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل اتفاق افتاد. MCTs نقش مهمی در نقل و انتقال لاکتات در شاتل درون و بین سلولی لاکتات در بافت‌های مختلف ایفا می‌کنند(۵). این انتقال دهنده‌ها عمدتاً در غشای پلاسمایی وجود دارند، در حالی که وجود ذخایر سیتوپلاسمی نیز برای MCT1 گزارش شده است. در سرطان سینه نیز، MCT1 و MCT4 به همراه CD147 نقش بسیار مهمی را در تومور ایفا می‌کند و افزایش در بیان MCT1 و MCT4 در سلول‌های سرطانی در تحقیقات پیشین گزارش شده است(۹ و ۸). MCTs با کمک به نقل و انتقال لاکتات بین سلول‌های تومور به شکل‌گیری و حفظ فنوتیپ تهاجمی سلول‌های سرطانی کمک می‌کنند. به همین دلیل مهار فعالیت MCTs در تومور به عنوان ابزاری درمانی در سرطان سینه در حال معرفی شدن است. به عنوان مثال در تحقیقی که به وسیله سانویاکس و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام گرفت، خاموش کردن ژن MCT1 در سلول‌های اندوتلیال منجر به کاهش HIF-1 $\alpha$ (<sup>۱</sup>) گردید و از آنژیوژنز و گسترش تومور جلوگیری به عمل آمد(۳۰). به این دلیل کاهش معنی‌دار در بیان MCT1 در گروه تمرینی مطالعه حاضر می‌تواند به عنوان یک مکانیسم سلولی در تأثیر مفید تمرین در کاهش وزن تومور مشاهده شده در گروه

در تحقیق حاضر تأثیر تمرین بر بیان MCT1 و MCT4 به عنوان دو ایزوفرم مهم در نقل و انتقال لاکتات در سلول‌های تومور مورد بررسی قرار گرفت. به دنبال اعمال پروتکل تمرینی کاهش معنی‌دار در بیان MCT1 در تومور موش‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل اتفاق افتاد. MCTs نقش مهمی در نقل و انتقال لاکتات در شاتل درون و بین سلولی لاکتات در بافت‌های مختلف ایفا می‌کنند(۵). این انتقال دهنده‌ها عمدتاً در غشای پلاسمایی وجود دارند، در حالی که وجود ذخایر سیتوپلاسمی نیز برای MCT1 گزارش شده است. در سرطان سینه نیز، MCT1 و MCT4 به همراه CD147 نقش بسیار مهمی را در تومور ایفا می‌کند و افزایش در بیان MCT1 و MCT4 در سلول‌های سرطانی در تحقیقات پیشین گزارش شده است(۹ و ۸). MCTs با کمک به نقل و انتقال لاکتات بین سلول‌های تومور به شکل‌گیری و حفظ فنوتیپ تهاجمی سلول‌های سرطانی کمک می‌کنند. به همین دلیل مهار فعالیت MCTs در تومور به عنوان ابزاری درمانی در سرطان سینه در حال معرفی شدن است. به عنوان مثال در تحقیقی که به وسیله سانویاکس و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام گرفت، خاموش کردن ژن MCT1 در سلول‌های اندوتلیال منجر به کاهش HIF-1 $\alpha$ (<sup>۱</sup>) گردید و از آنژیوژنز و گسترش تومور جلوگیری به عمل آمد(۳۰). به این دلیل کاهش معنی‌دار در بیان MCT1 در گروه تمرینی مطالعه حاضر می‌تواند به عنوان یک مکانیسم سلولی در تأثیر مفید تمرین در کاهش وزن تومور مشاهده شده در گروه

1- Hypoxia-Inducible Factor- $\alpha$   
2-Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2  
3-Vascular Endothelial Growth Factor

CD147 در انتقال این ترانسپورترها به سمت غشای پلاسمائی و بیان شدن آنها بر روی غشا تأثیرگذار است، کاهش معنی‌دار این فاکتور می‌تواند به عنوان یک مکانیسم سلولی، کاهش در بیان MCT1 در مطالعه حاضر را تفسیر نماید.

### نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بعد از اعمال یک دوره تمرین استقامتی میانگین وزن تومور کاهش معنی‌دار دارد. این تغییر با کاهش بیان MCT1 و CD147 در تومور همراه است. در نتیجه تمرین استقامتی با کاهش بیان انتقال دهنده لاکتات می‌تواند متابولیسم لاکتات در سلول‌های سرطانی را کاهش دهد و به عنوان یک ابزار مفید در درمان یا جلوگیری از سرطان سینه عمل نماید.

### تقدیر و تشکر

مطالعه حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش دانشگاه شهید باهنر کرمان است، نویسندگان بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از پژوهشکده مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان به جهت حمایت آزمایشگاهی از انجام تحقیق حاضر ابراز می‌دارند.

در مطالعه حاضر بیان MCT4 به صورت کلی در تومور اندازه‌گیری گردید، این عامل می‌تواند به عنوان دلیل احتمالی عدم تغییر معنی‌دار در بیان MCT4 تومور در انتهای تحقیق حاضر معرفی شود، لذا انجام تحقیق دیگر با هدف اندازه‌گیری بیان MCT4 تومور به صورت جداگانه در غشای پلاسمایی و سیتوپلاسم به محققان بعدی پیشنهاد می‌شود. در عین حال به عنوان نتیجه‌گیری نهایی، نتایج تحقیق حاضر حاکی از نقش برجسته تر MCT1 نسبت به MCT4 در نقل و انتقال لاکتات در سلول‌های سرطانی بود.

کاهش در بیان MCT1 در تومور با کاهش بیان CD147 همراه بود. CD147 یک گلیکوپروتئین چند عملکردی است که می‌تواند بیان MCTs را تنظیم کند (۳۲). مطالعاتی که از خاموش کردن CD147 استفاده نموده‌اند، کاهش بارز در بیان MCT1 و MCT4 را گزارش نموده‌اند و تأیید کرده‌اند که CD147 یک پروتئین کمکی است که وجود آن برای بیان طبیعی MCTs مورد نیاز است (۳۲). بعضی از مطالعات هم بر این اعتقاد هستند که MCT1 و MCT4 انتقال دهنده‌های هترومریک هستند که از یک واحد مونوکربوکسیلات ترانسپورتر و یک زیر واحد CD147 تشکیل شده‌اند. نقش CD147 در گسترش سرطان در تحقیقات پیشین نیز گزارش شده است (۳۲ و ۸). در مطالعه حاضر نیز ضرورت وجود CD147 جهت بیان طبیعی MCT1 از ارتباط مثبتی که بین CD147 و MCT1 به دست آمد، قابل استنتاج است. مشابه این رابطه در مطالعه کلین و همکاران نیز گزارش شده است (۹). با توجه به این که

## REFERENCES:

1. Rodney CR, John OS. Breast Cancer: A Review of the Literature. *J Insur Med* 2003; 35:85-101.
2. Kristin LC, Anne M. Exercise and Biomarkers for Cancer Prevention Studies. *J Nutr* 2007; 137(1): 161S–9S.
3. Henry JT , Anne MR , Karen A. R, Tagliaferro AR. Effect of Type and Amount of Dietary Fat on the Enhancement of Rat Mammary Tumorigenesis by Exercise. *Cancer Res* 1989; 49: 1904-8.
4. Daniel AG , Robert UN. Exercise Intervention Studies in Cancer Patients . *J Clin Oncol* 2005; 23(4): 899-90.
5. Nihed D, Olivier F. Lactate shuttles at a glance: from physiological paradigms to anti-cancer treatments. *Disease Models & Mechanisms* 2011; 4: 727-32.
6. Gregg LS. Tumor metabolism: cancer cells give and take lactate. *J Clin Invest* 2008; 118(12): 3835–7.
7. Pierre S, Frédérique V, Thies S, Melanie CW, Julien V, Zahid NR, et al. Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice. *J Clin Invest* 2008;118(12): 3930-42.
8. Céline P, Adhemar LF, João AS, Margarida C, Fernando CS, Fátima B. Role of monocarboxylate transporters in human cancers: state of the art. *J Bioenerg Biomembr* 2012; 44(1): 127-39.
9. Céline P, Rui MR, Sara R, Adhemar LF, Fernando S, Fátima B. Expression of Monocarboxylate Transporters 1, 2, and 4 in Human Tumours and Their Association with CD147 and CD44. *J of Biomedicine and Biotechnology* 2010; 10: 1155, 2010, 427694
10. Parks SK, Chiche J, Pouyssegur J. pH control mechanisms of tumor survival and growth. *J Cell Physiol* 2011; 226: 299–308.
11. Renaud LF , Johanna C, Ibtissam M, Tanesha N, Karine I, Clare MM, et al. CD147 subunit of lactate/H<sup>+</sup> symporters MCT1 and hypoxia-inducible MCT4 is critical for energetic and growth of glycolytic tumors. *PNAS* 2011; 108 (40): 16663–8.
12. Shannon MG , John JC , Dian W. Monocarboxylate Transporter 4 Regulates Maturation and Trafficking of CD147 to the Plasma Membrane in the Metastatic Breast Cancer Cell Line MDA-MB-231. *Cancer Res* 2007; 67: 4182-9.
13. Hervé D ,Gail EB , Eugene EW , Bryan CB , and George AB. Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle. *AJP Endo* 2000; 278(4): E571 – 9.
14. Thomas C, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. *Hysiol* 2005; 98(3): 804-9.
15. Thomas C, Sirvent P, Perrey S, Raynaud E, Mercier J. Relationships between maximal muscle oxidative capacity and blood lactate removal after supramaximal exercise and fatigue indexes in humans. *J Appl Physiol* 2004 ; 97: 2132-8.
16. Heredia FP, Wood IS, Trayhurn P. Hypoxia stimulates lactate release and modulates monocarboxylate transporter (MCT1, MCT2, and MCT4) expression in human adipocytes. *Pflugers Arch Eur J Physiol* 2010; 459: 509–18.
17. Dubouchaud H, Granier P, Mercier J, Le Peuch C, Prefaut C. Lactate uptake by skeletal muscle sarcolemmal vesicles decreases after 4 wk of hindlimb unweighting in rats. *J Appl Physiol* 1996; 80(2): 416-21.
18. McCullagh KJA, Bonen A. Reduced lactate transport in denervated rat skeletal muscle . *Am J PhysiolRegulIntegr Comp Physiol* 1995; 268: R884–R8.
19. Hao JL, Cozzi PJ, Khatri A, Power CA, Li Y. CD147/EMMPRIN and CD44 are potential therapeutic targets for metastatic prostate cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10(3): 287-306.
20. Rajaa H, George AB. Mitochondrial and plasma membrane lactate transporter and lactate dehydrogenase isoform expression in breast cancer cell lines. *Physiol Genomics* 2011;43(5):255-64.
21. Li Y , Stanley Z, Bryan P. Roles of the multifunctional glycoprotein, emmprin(basigin; CD147), in tumour progression. *Thromb Haemost* 2005; 93: 199-204.
22. Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. *J Nutr* 2002; 132: S3456– 64.
23. Shalini SK, Radhakrishnan AK, Cheong SK. Immune responses in the microenvironment of a metastatic 4T1 mouse model. *Egypt Acad J Biolog* 2010; 2(2): 19-26.

24. Schroede R, James EH, Mark WD, Stephen TK, Stephen JF, Michael QP, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. *J Appl Physiol* 2010; 108: 343-8.
25. Lanari C, Lüthy I, Lamb CA, Fabris V, Pagano E, Helguero LA, Sanjuan N, Merani S, Molinolo AA. Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: in vivo and in vitro effects of estrogens and progestins. *Cancer Res* 2001; 61(1): 293-302.
26. Alma JS, William RP, William TK, Schmitz, Mindy SK. The Effects of Aerobic Exercise on Estrogen Metabolism in Healthy Premenopausal Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013; 22; 756.
27. Pedro WMA, Ary GF, Anderson JF, Carlos EMR, Marco FDP, Remo CR, et al. Swim training suppresses tumor growth in mice. *J Appl Physiol* 2009; 107: 261-5.
28. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux TL, McClellan JL, Steiner JL, Carmichael MD, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3(1)SV40Tag mice. *Cytokine* 2011; 55(2): 274-9.
29. Steiner JL, Davis JM, McClellan JL, Enos RT, Murphy EA. Effects of voluntary exercise on tumorigenesis in the C3(1)/SV40Tag transgenic mouse model of breast cancer. *International Journal of Oncology* 2013; 42(4): 1466-72.
30. Sonveaux P, Copetti T, Saedeleer CJ, Ve'gran F, Verrax J, et al. Targeting the Lactate Transporter MCT1 in Endothelial Cells Inhibits Lactate-Induced HIF-1 Activation and Tumor Angiogenesis. *PLoS ONE* 2012; 7(3): e33418.
31. Andrew PH, Nigel TP. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. *Biochem* 1999; 343: 281-99.
32. Schneiderhan W, Scheler M, Holzmann KH. CD147 silencing inhibits lactate transport and reduces malignant potential of pancreatic cancer cells in in vivo and in vitro models. *Gut* 2009; 58: 1391-8.

# Lactate Transporters Expression in Tumor of Balb/c Mice Bearing Breast Cancer after Endurance Training

Aveseh M, Nikooie R\*, Aminaie M

Department of Exercise physiology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Received: 7 Jan 2014

Accepted: 27 April 2014

## Abstract

**Background & aim:** Changes in the metabolism of cancer cells plays a major role in the survival and their expansion. The aim of this study was to determine expression of lactate transmitters in Balb/c mice with breast cancer after endurance training.

**Methods:** In this experimental study twenty-five Balb C mice were randomly divided into two groups of breast cancer control (N=13) and breast cancer training (N=12). Breast cancer was induced in mammary fat pad by injection of cancer cells (MC4L2) in mice and endurance training protocol was applied for 7 weeks in the experimental group. Tumor volume and MCT1, MCT4, and CD147 expression were measured by micro digital caliper and western blotting technique respectively. Data were analyzed statistically using Student t and Pearson.

**Results:** Significant decreases was found in weight and CD147 expression of tumor after 7 weeks of endurance training in the exercise group compared to the control group. No significant differences were seen in MCT4 expression and tumor volume between the groups (05 / 0p>0.05). Significant correlation was found between tumor MCT1 and CD147 expression ( $P < 0.05$ ), while the relationship between MCT4 and CD147 expression in tumors was not statistically significant.

**Conclusion:** Endurance training can reduce lactate metabolism in cancer cells through suppression of lactate transporters expression and provides a useful tool in breast cancer treatment or prevention.

**Key words:** Endurance training, Breast cancer, Lactate, Monocarboxylate transporters

---

\*Corresponding author: Nikooie R, Department of Exercise physiology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Email: r\_nikooie@uk.ac.ir

Please cite this article as follows:

Aveseh M, Nikooie R, Aminaie M. Lactate Transporters Expression in Tumor of Balb/c Mice Bearing Breast Cancer after Endurance Training. Armaghane-danesh 2014; 19(7): 602-613.