

Original article

The Effects of Aerobic and Combined Exercise on the *p53* and *VEGFR-2* Gene Expression in Colon Cancer-Induced Rats

Batool Eslami, Jamshid Banaei Borojeni*, Mahnaz Marvi Esfahani, Elham Eftekhari Gheinani

Department of Sport Sciences, Na.C., Islamic Azad University, NajafAbad, Iran

* Corresponding author. Tel: +983142292173, Fax: +983142292929, E-mail: banaii9557@iau.ac.ir

Article info

Article history:

Received: Jan 29, 2026

Accepted: Feb 21, 2026

Keywords:

Aerobic Exercise

Combined Exercise

Apoptosis

Tumor Angiogenesis

Colon Cancer

ABSTRACT

Background: This study aimed to examine the impact of aerobic exercise and combined exercise (aerobic-resistance) on *p53*-dependent apoptosis and on reducing colon tumor microvascularization via *VEGFR-2* in a rat model of colon cancer.

Methods: This in vivo experimental study involved 50 rats. Following the induction of colon cancer using 1,2-dimethylhydrazine (DMH), the rats were randomly assigned to five groups: Healthy Control (HC), Sham (SH), Sedentary Diseased (DS), Diseased+Aerobic Exercise (DA), and Diseased+Combined Exercise (DC). The exercise interventions were conducted over 10 weeks. Post-training, the gene expression levels of *p53* and *VEGFR-2* were evaluated using Real-time PCR. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA with a significance threshold of $p<0.05$.

Results: Induction of colon cancer in the DS group led to a significant downregulation of *p53* expression ($p<0.001$) and a significant upregulation of *VEGFR-2* ($p<0.001$) compared to the HC group. Both exercise interventions exhibited significant modulatory effects. Specifically, the DA group showed a significant increase in *p53* ($p=0.044$) and a significant decrease in *VEGFR-2* ($p<0.001$) compared with the DS group. The DC group, however, showed a more pronounced effect, with significant increases in *p53* ($p<0.001$) and decreases in *VEGFR-2* ($p<0.001$) compared to the DS group. Additionally, a significant difference in the improvement of both indices was observed between the DC and DA groups ($p<0.01$).

Conclusion: The findings suggest that regular physical exercise, particularly the combined approach, serves as an effective therapeutic strategy for modulating tumor survival pathways in colon cancer by enhancing the apoptotic pathway (*p53*) and inhibiting angiogenesis (*VEGFR-2*), thereby exerting antineoplastic effects.

How to cite this article: Eslami B, Banaei Borojeni J, Marvi Esfahani M, Eftekhari E. The Effects of Aerobic and Combined Exercise on the *p53* and *VEGFR-2* Gene Expression in Colon Cancer-Induced Rats. J Ardabil Univ Med Sci. 2026;26(1):

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

Extended Abstract

Background: Colon cancer progression is not solely driven by uncontrolled cellular proliferation but is strongly dependent on complex biological adaptations that support tumor survival, including suppression of programmed cell death and enhancement of tumor angiogenesis. Two critical pathways underlying these processes are the *p53*-mediated apoptotic pathway and the *VEGFR-2*-dependent angiogenic signaling axis. The tumor suppressor gene *p53* plays a pivotal role in regulating cell cycle arrest and apoptosis in response to genomic damage, and its downregulation is associated with increased tumor cell survival. Conversely, *VEGFR-2* is a key mediator of endothelial cell proliferation and neovascularization, facilitating tumor growth through enhanced oxygen and nutrient supply. Emerging evidence suggests that physical exercise may exert antineoplastic effects by modulating both apoptotic and angiogenic pathways. However, most previous studies have investigated these mechanisms independently, and limited evidence exists regarding the simultaneous effects of different exercise modalities on these critical tumor survival pathways. In particular, the comparative and integrative effects of aerobic versus combined (aerobic-resistance) exercise on both apoptosis and tumor microvascularization remain insufficiently explored. Therefore, the present study aimed to investigate the effects of aerobic and combined exercise on the expression of *p53* and *VEGFR-2* genes in a rat model of colon cancer, with a focus on elucidating their potential role in modulating tumor survival mechanisms.

Methods: This study was designed as a randomized controlled experimental laboratory investigation with a quantitative approach. The study population consisted of 50 male Wistar rats aged 10-12 weeks and weighing 250-300 grams, maintained under standard laboratory conditions including controlled temperature ($22\pm2^{\circ}\text{C}$), a 12-hour light/dark cycle, and free access to food and water. After one-week acclimatization period, colon cancer was induced using subcutaneous injections of 1,2-dimethylhydrazine (DMH) at a dose of 40 mg/kg body weight, administered weekly for

six consecutive weeks. The animals were then randomly assigned into five groups ($n=10$ per group): Healthy Control (HC), Sham (SH), Sedentary Diseased (DS), Diseased+Aerobic Exercise (DA), and Diseased+Combined Exercise (DC).

The aerobic exercise protocol consisted of continuous treadmill running at 60% of maximal running speed, performed five sessions per week for 10 weeks, with each session lasting 60 minutes. The combined exercise protocol included both aerobic (swimming in water at $31\pm2^{\circ}\text{C}$, progressively increased from 10 to 30 minutes) and resistance training (ladder climbing with loads progressively increased from 10% to 50% of body weight), conducted on alternating days over the same 10-week period.

Following the intervention period, colon tissue samples were collected and immediately frozen in liquid nitrogen. Total RNA was extracted using TRIzol reagent, and cDNA synthesis was performed using a standard reverse transcription kit. Gene expression levels of *p53* and *VEGFR-2* were quantified using Real-time PCR with SYBR Green, and β -actin was used as an internal control. Relative gene expression was calculated using the $\Delta\Delta\text{Ct}$ method.

Statistical analysis was performed using SPSS version 27. Data normality was assessed using the Shapiro-Wilk test, and homogeneity of variances was examined using Levene's test. One-way ANOVA was used to compare group differences, followed by Tukey's post-hoc test for pairwise comparisons. The level of statistical significance was set at $p<0.05$.

Results: Descriptive findings indicated distinct patterns of change in apoptotic and angiogenic markers across the study groups. In the sedentary diseased group (DS), induction of colon cancer resulted in a marked decrease in *p53* expression (0.60 ± 0.29) and a substantial increase in *VEGFR-2* expression (1.85 ± 0.38) compared to the healthy control group (*p53*: 1.00 ± 0.16 ; *VEGFR-2*: 1.00 ± 0.14), reflecting suppression of apoptosis and activation of tumor angiogenesis.

One-way ANOVA revealed statistically significant differences among the groups for both *p53* ($F=8.52$, $p=0.0003$) and *VEGFR-2* ($F=31.84$, $p<0.0001$), indicating that the observed changes were influenced by both disease status and exercise interventions.

Post-hoc Tukey analysis demonstrated that the DS group had significantly lower *p53* expression and higher *VEGFR-2* levels compared to the healthy control group ($p<0.001$), confirming the effectiveness of cancer induction. Both exercise interventions significantly modulated these alterations. In the aerobic exercise group (DA), *p53* expression increased significantly (mean difference= +0.32, $p=0.044$), while *VEGFR-2* expression decreased significantly (mean difference= -0.55, $p<0.001$) compared to the DS group.

More pronounced effects were observed in the combined exercise group (DC), where *p53* expression showed a greater increase (mean difference= +0.58, $p=0.0004$) and *VEGFR-2* exhibited a greater reduction (mean difference= -0.90, $p<0.001$) relative to the DS group. Furthermore, direct comparison between DC and DA groups revealed significant differences in both *p53* ($p<0.001$) and *VEGFR-2* ($p=0.012$), indicating the superior efficacy of combined exercise.

These findings suggest that both aerobic and combined exercise can partially reverse tumor-induced molecular alterations, but the combined modality exerts a stronger regulatory effect on both apoptotic and angiogenic pathways. The concurrent upregulation of *p53* and downregulation of *VEGFR-2* in the DC group indicates a dual mechanism involving enhanced apoptotic signaling and suppression of tumor vascularization.

Conclusion: The present study demonstrates that regular physical exercise, particularly combined aerobic-resistance training, can simultaneously modulate two critical biological

pathways involved in colon tumor survival. The upregulation of *p53* suggests enhanced activation of apoptotic signaling, while the downregulation of *VEGFR-2* reflects suppression of tumor angiogenesis. These dual effects contribute to destabilizing the tumor microenvironment and limiting tumor progression.

The superior efficacy of combined exercise compared to aerobic exercise alone highlights the importance of multi-component training interventions that target diverse physiological and molecular mechanisms. From a translational perspective, these findings support the potential role of structured exercise programs as non-pharmacological adjunct therapies in colon cancer management. Incorporating combined exercise regimens may enhance the effectiveness of conventional treatments by increasing tumor sensitivity to apoptosis and reducing vascular support for tumor growth.

Despite these promising results, the study is limited by its use of an animal model and the focus on a limited number of molecular markers. Future research should investigate additional signaling pathways, immune and inflammatory responses, and clinical outcomes in human populations. Overall, this study provides evidence that exercise, particularly in its combined form, represents a multifaceted and effective strategy for modulating tumor biology and improving cancer-related outcomes.

تاثیر تمرینات هوازی و ترکیبی بر بیان ژنهای *p53* و *VEGFR-2* در رت‌های مبتلا به سرطان کولون

بتول اسلامی، جمشید بنایی بروجنی*، مهناز مروی اصفهانی، الهام افتخاری قینانی

گروه علوم ورزشی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۳۱۴۲۲۹۲۱۷۳ فاکس: ۰۳۱۴۲۲۹۲۹۲۹ پست الکترونیک: banaii9557@iau.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: هدف پژوهش حاضر بررسی نقش تمرینات هوازی و تمرینات ترکیبی (هوازی-مقاومتی) در القای آپوپتوز وابسته به پروتئین *p53* و کاهش میکروواسکولاریزاسیون تومور کولون از طریق پروتئین *VEGFR-2* در مدل حیوانی سرطان کولون بود.

روش کار: این مطالعه به صورت تجربی آزمایشگاهی بر روی ۵۰ سر رت انجام شد که پس از القای سرطان کولون با ۱۰۲-دی‌متیل‌هیدرازین (DMH)، به طور تصادفی در پنج گروه کنترل سالم (CH)، شم (SH)، بیمار کم‌تحرك (DS)، بیمار + تمرین هوازی (DA) و بیمار + تمرین ترکیبی (DC) تقسیم شدند. مداخلات تمرینی به مدت ۱۰ هفته اجرا گردید. پس از پایان دوره تمرین، بیان ژن‌ها *p53* و *VEGFR-2* با روش Real-time PCR ارزیابی شد. تعیین و تحلیل آماری با ANOVA یک‌طرفه با سطح معناداری $p < 0.05$ صورت گرفت.

یافته‌ها: القای سرطان در گروه DS به طور معنی‌داری منجر به کاهش بیان *p53* ($p < 0.001$) و افزایش *VEGFR-2* ($p < 0.001$) در مقایسه با گروه HC شد. هر دو نوع مداخله تمرینی اثر تعدیل‌کننده قابل‌توجهی نشان دادند؛ به طوری که DA باعث افزایش معنی‌دار *p53* ($p = 0.044$) و کاهش *VEGFR-2* ($p < 0.001$) در مقایسه با گروه DS شد. با این حال، اثر بیشتری داشت و منجر به افزایش معنی‌دار *p53* ($p < 0.001$) و کاهش *VEGFR-2* ($p < 0.001$) در مقایسه با گروه DS گردید. علاوه بر این، تفاوت معنی‌داری در بهبود هر دو شاخص بین گروه DC و DA مشاهده شد ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که تمرین ورزشی منظم، به ویژه رویکرد ترکیبی، احتمالاً یک استراتژی درمانی مؤثر برای تعدیل مسیرهای بقای تومور در سرطان کولون است؛ به نحوی که با تقویت مسیر آپوپتوز (*p53*) و مهار رگ‌زایی (*VEGFR-2*)، اثرات ضدتئوپلاستیک خود را اعمال می‌کند.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، تمرین ترکیبی، آپوپتوز، رگ‌زایی تومور، سرطان کولون

دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۹ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۲

مقدمه

را تضمین می‌کند [۱]. با پیشرفت تومور، افزایش نیاز متابولیکی سلول‌های سرطانی مستلزم بازآرایی مسیرهای حیاتی برای تأمین انرژی، اکسیژن و مواد مغذی است؛ فرایندی که با ایجاد فشار فیزیولوژیک

رشد تومور کولون فراتر از افزایش صرف تعداد سلول‌های سرطانی بوده و با تغییرات عمیق زیستی در سطح بافتی و سیستمیک همراه است که بقای تومور

قابل توجه بر بافت میزبان، رشد و تهاجم تومور را تسهیل می‌کند [۲،۳]. در این میان، وابستگی شدید تومور کولون به خون‌رسانی کارآمد موجب می‌شود هر گونه اختلال در تأمین عروقی، به‌طور مستقیم بر پویایی رشد تومور اثرگذار باشد، پدیده‌ای که در مدل‌های حیوانی به‌خوبی گزارش شده است [۴،۵].

در میان مکانیسم‌های مؤثر بر بقای تومور کولون، دو فرآیند کلیدی شامل مهار مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی و توسعه رگ‌زایی توموری نقش تعیین‌کننده‌ای ایفا می‌کنند [۴،۶]. ضعف مسیرهای آپوپتوتیک باعث افزایش بقای سلول‌های غیرطبیعی شده و هم‌زمان، رگ‌زایی فعال با تأمین مستمر اکسیژن و مواد مغذی، شرایط لازم برای رشد و تهاجم تومور را فراهم می‌سازد [۷]. این دو سازوکار در یک تعامل پویا عمل کرده و بقای تومور را تقویت می‌کنند، به‌گونه‌ای که مهار آپوپتوز نیاز متابولیکی تومور را افزایش داده و رگ‌زایی فعال نیز مقاومت سلول‌ها در برابر مرگ سلولی را تشدید می‌کند [۸].

یکی از ویژگی‌های زیستی تعیین‌کننده در بقای تومور کولون، اختلال در کنترل ژنتیکی مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی است [۹]. در این میان، ژن *p53* به‌عنوان یک سرکوبگر توموری کلیدی، با شناسایی آسیب‌های ژنتیکی، توقف چرخه سلولی و تنظیم مسیرهای بالادستی آپوپتوز، نقش محوری در مهار تکثیر غیرقابل کنترل سلول‌های سرطانی ایفا می‌کند؛ به‌گونه‌ای که کاهش یا اختلال در بیان آن با افزایش بقای سلول‌های توموری همراه است [۱۰]. از سوی دیگر، تغییر در تعادل بیان ژن‌های تنظیم‌کننده مرگ و بقا، به‌ویژه کاهش نسبت *Bax/Bcl-2*، به‌عنوان شاخصی از تضعیف تمایل سلول به ورود به مسیر آپوپتوز شناخته می‌شود و با مقاومت تومورها نسبت به مرگ برنامه‌ریزی‌شده و تداوم رشد نئوپلاستیک ارتباط دارد [۱۱]. شواهد حاصل از مدل‌های حیوانی سرطان کولون نشان می‌دهد که تضعیف سیگنال‌های بالادستی وابسته به *p53* و کاهش

نسبت *Bax/Bcl-2* از جمله سازوکارهایی هستند که بقای سلول‌های توموری را تسهیل کرده و به پیشرفت تومور منجر می‌شوند [۱۲،۱۳]. با وجود شواهد گسترده درباره نقش این مسیرها، هنوز مشخص نیست مداخلات غیر دارویی، به‌ویژه تمرین ورزشی با الگوهای متفاوت، چگونه می‌توانند این تعامل دوگانه را در مدل‌های حیوانی سرطان کولون تعدیل کنند؛ موضوعی که در مطالعات پیشین کمتر به‌صورت یکپارچه بررسی شده است.

علاوه بر اختلالات سلولی، بقای تومور کولون به‌شدت به بازآرایی شبکه عروقی درون بافت توموری وابسته است. افزایش میکروواسکولاریزاسیون توموری، به‌عنوان شاخصی از آنژیوژنز فعال، با تأمین مداوم اکسیژن و مواد غذایی، رشد سریع‌تر و تهاجم بیشتر تومور را تسهیل می‌کند [۱۴]. در این فرآیند، گیرنده *VEGFR-2* نقش کلیدی در انتقال سیگنال‌های بقای اندوتلیال، تکثیر سلول‌های عروقی و پایداری عروق تازه‌تشکیل‌شده ایفا می‌کند و فعال‌سازی بیش‌ازحد آن با تشدید آنژیوژنز پاتولوژیک همراه است. افزون بر این، افزایش تراکم عروقی می‌تواند با فراهم‌سازی مسیرهای بالقوه گسترش سلول‌های سرطانی، خطر پیشرفت و متاستاز تومور را افزایش دهد [۱۵].

در سال‌های اخیر، تمرین ورزشی به‌عنوان یک مداخله فیزیولوژیک چندبعدی مطرح شده است که فراتر از اثرات عمومی سلامت، توانایی تعدیل هم‌زمان فرآیندهای سلولی و بافتی مرتبط با رشد تومور را داراست. شواهد مولکولی نشان می‌دهد که فعالیت بدنی منظم می‌تواند با تغییر محیط متابولیکی و التهابی تومور، سیگنال‌های بقای سلولی را مهار کرده و حساسیت سلول‌های سرطانی به مرگ برنامه‌ریزی‌شده را افزایش دهد [۲]. از منظر ساختاری، تمرین با اثرگذاری بر جریان خون و عملکرد اندوتلیال، می‌تواند پایداری عروق توموری را دستخوش تغییر کرده و تعادل بین آنژیوژنز و پس‌رفت عروقی را به نفع مهار رشد تومور تنظیم

نماید [۱۶]. بررسی‌های تطبیقی نشان داده‌اند که تمرینات هوازی و مقاومتی، هر یک از مسیرهای متفاوت اما مکملی در تعدیل محیط تومور فعال می‌کنند، به‌طوری‌که تمرین هوازی بیشتر بر سازگاری‌های عروقی و اکسیژناسیون مؤثر است، در حالی که تمرین مقاومتی با حفظ توده عضلانی و تنظیم فاکتورهای متابولیکی، محیط زیستی تومور را کمتر مساعد می‌سازد [۱۷]. افزون بر این، شواهد جدید حاکی از آن است که ترکیب این دو نوع تمرین می‌تواند اثرات هم‌افزا بر مسیرهای مولکولی مرگ سلولی و مهار آنژیوژنز ایجاد کند، موضوعی که تمرین ورزشی را به‌عنوان یک تنظیم‌کننده چندسطحی و بالقوه مؤثر در کنترل تومور کولون مطرح می‌سازد [۷].

مرور ادبیات نشان می‌دهد هرچند ورزش به‌عنوان یک مداخله زیستی ضدتومور مطرح شده، اما شواهد موجود غالباً به‌صورت پراکنده و تک‌محوری گزارش شده‌اند و همین امر، تبیین سازوکارهای هم‌زمان مرگ سلولی و رگ‌زایی را دشوار کرده است، برای مثال، قاضی‌زاده و همکاران بیشتر بر تعدیل عوامل سیستمیک مستعدکننده مانند IGF-1 و IGF-3 تمرکز داشته‌اند و از این رو، تغییرات مستقیم بافت توموری و شاخص‌های عروقی را به‌طور یکپارچه پوشش نمی‌دهند [۱۸]. همچنین عسکری و همکاران با برجسته‌کردن افزایش بیان $p53$ در بستر یک پروتکل مقاومتی همراه با مداخله هورمونی، به محورهای ژنتیکی سرکوب تومور نزدیک می‌شوند، اما پیوند هم‌زمان این تغییرات با شاخص‌های میکروواسکولاریزاسیون به‌صورت صریح در طراحی مطالعه منعکس نشده است [۱۳]. از سوی دیگر، کشت‌ورز و همکاران با گزارش افزایش BAX و کاهش BCL-2، تصویر روشنی از تقویت آپوپتوز ارائه می‌کنند [۱۲]. با این حال، پیامدهای عروقی در سطح گیرنده‌های کلیدی مانند $VEGFR-2$ به‌طور هم‌زمان محور اصلی تحلیل قرار نگرفته است. در نقطه مقابل،

شیروانی و همکاران در قالب تمرین تناوبی شدید، تغییرات متابولیکی و افزایش $p53$ را در بافت تومور برجسته کرده‌اند، اما چارچوب آن‌ها بیشتر روی تنظیم متابولیسم و تکثیر متمرکز است و نقش شبکه عروقی تومور را به‌عنوان یک متغیر هم‌ارز و هم‌زمان کمتر وارد مدل تبیینی می‌کند [۱۰]. در عین حال، داربند و همکاران هم‌زمان به افزایش نسبت Bax/Bcl-2 و کاهش $VEGF$ اشاره کرده‌اند [۱۹]. اما تمرکز مطالعه بر پیامدهای کلی‌تر آسیب‌شناختی و شاخص‌های پیش‌سرطانی است و تحلیل مسیرهای گیرنده‌ای عروق (مانند $VEGFR-2$) را به‌صورت منسجم و هدف‌محور دنبال نمی‌کند. در نهایت، لی و همکاران کاهش $HIF-1\alpha$ و $VEGF$ را همراه با کاهش رشد تومور گزارش کرده‌اند که از منظر مهار رگ‌زایی قابل اتکاست، اما این رویکرد عمدتاً بر یک نوع تمرین هوازی و یک محور عروقی متمرکز می‌ماند و هم‌زمانی آن با شاخص‌های ژنتیکی آپوپتوز وابسته به $p53$ در یک مدل مقایسه‌ای هوازی در برابر ترکیبی، همچنان کم‌رنگ است. بنابراین، با وجود شواهد موجود، هنوز مشخص نیست که تمرینات هوازی و ترکیبی چگونه می‌توانند به‌طور هم‌زمان برخی پروتئین‌های محور آپوپتوز وابسته به ژن $p53$ و میکروواسکولاریزاسیون تومور کولون را از طریق مهار مسیر $VEGFR-2$ تعدیل کنند.

بررسی هم‌زمان آپوپتوز و رگ‌زایی در تومور کولون از آن جهت ضروری است که بقای تومور نه حاصل یک مسیر منفرد، بلکه نتیجه تعامل پیچیده میان فرار از مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی و حفظ شبکه عروقی فعال است [۲۰]. تمرکز بر مسیر $VEGFR-2$ از منظر زیستی منطقی به نظر می‌رسد، زیرا این محور در پایداری عروق توموری، بقای سلول‌های اندوتلیال و تأمین نیازهای متابولیکی تومور نقش محوری دارد و هرگونه اختلال در آن می‌تواند ساختار و عملکرد عروق توموری را دچار ناپایداری کند [۲۱]. از سوی دیگر، مقایسه تمرینات هوازی و ترکیبی اهمیت دارد،

چرا که این دو الگوی تمرینی از نظر شدت، ماهیت محرک‌های فیزیولوژیک و دامنه سازگاری‌های سلولی و بافتی متفاوت‌اند و ممکن است اثرات متمایز یا مکملی بر محیط تومور داشته باشند. انتخاب مدل حیوانی سرطان کولون نیز امکان کنترل دقیق متغیرها، بررسی مستقیم بافت توموری و تحلیل هم‌زمان تغییرات مولکولی و عروقی را فراهم می‌سازد و زمینه‌ای مناسب برای تبیین مکانیسم‌های زیربنایی اثر تمرین ایجاد می‌کند.

از منظر تحلیلی، تمرین ورزشی می‌تواند با تعدیل سیگنالینگ وابسته به *VEGFR-2*، پایداری عملکردی و ساختاری عروق توموری را کاهش دهد و از این طریق جریان خون غیرطبیعی و رگ‌زایی نابجا را محدود سازد. هم‌زمان، فعال‌سازی مسیرهای تنظیم‌کننده مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی، به‌ویژه محور وابسته به *p53* می‌تواند حساسیت سلول‌های سرطانی به آپوپتوز را افزایش دهد و از تجمع سلول‌های مقاوم جلوگیری کند. هم‌زمانی این دو فرآیند، یعنی تضعیف حمایت عروقی و تقویت مرگ سلولی، شرایطی را ایجاد می‌کند که در آن محیط تومور از نظر زیستی ناپایدار شده و ظرفیت رشد و تهاجم آن کاهش می‌یابد. چنین هم‌افزایی زیستی نشان می‌دهد که تمرین نه تنها یک عامل تعدیل‌کننده منفرد، بلکه یک مداخله چندسطحی با اثرات هم‌زمان بر اجزای سلولی و بافتی تومور است.

با وجود شواهد موجود درباره اثرات مستقل تمرین بر برخی مسیرهای مولکولی یا عروقی، همچنان ابهام اساسی در مورد نحوه تأثیر هم‌زمان تمرینات هوازی و ترکیبی بر مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول‌های توموری و میکروواسکولاریزاسیون تومور کولون باقی مانده است. به‌ویژه روشن نیست که این الگوهای تمرینی چگونه می‌توانند به صورت توأمان محور آپوپتوز وابسته به *p53* و مسیر عروقی *VEGFR-2* را تعدیل کرده و از این طریق رشد تومور را محدود سازند. بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی

اثر تمرینات هوازی و ترکیبی بر بیان ژن *p53* که با سیگنال‌دهی آپوپتوز مرتبط است، و همچنین بیان *VEGFR-2* به‌عنوان شاخصی مرتبط با رگ‌زایی در رت‌های مبتلا به سرطان کولون انجام شد.

روش کار

این پژوهش به‌صورت یک مطالعه تجربی تصادفی کنترل‌شده و آزمایشگاهی طراحی و اجرا شد و داده‌ها به‌صورت کمی گردآوری گردید. جامعه آماری شامل رت صحرایی نر آزمایشگاهی با سن ۱۰ تا ۱۲ هفته و وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم بود که در شرایط استاندارد آزمایشگاهی شامل دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. پس از یک دوره تطبیق هفت‌روزه با محیط، مدل حیوانی سرطان کولون با استفاده از تزریق زیرپوستی ماده دی‌متیل‌هیدرازین^۱ (DMH) با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، حل‌شده در محلول سدیم بی‌کربنات ۱٪، به حجم ۱ میلی‌لیتر در هر تزریق، به‌صورت هفتگی و به مدت شش هفته ایجاد شد [۲۲]. گروه شم (SH) شامل رت‌هایی بود که فقط محلول حلال DMH (سدیم بی‌کربنات ۱٪) را با همان حجم و روش تزریق دریافت کردند، بدون دریافت ماده فعال و بدون انجام تمرین. این گروه به منظور کنترل اثرات بالقوه حلال و فرآیند تزریق بر شاخص‌های مولکولی و بافتی و تمایز آن‌ها از اثرات واقعی DMH در نظر گرفته شد. کلیه مراحل نگهداری، مداخله و نمونه‌برداری مطابق با دستورالعمل‌های اخلاق در پژوهش‌های حیوانی انجام گرفت. این پژوهش براساس راهنمای کار با حیوانات و موجود زنده کمیته اخلاق با کد IR.IAU.NAJAFABAD.REC1404.225 تأیید گردید.

^۱ 1,2-dimethylhydrazine

حرکتی کاهش یابد. سپس آزمون بیشینه افزایشی دویدن برای تعیین ظرفیت عملکردی هر حیوان اجرا شد و شدت تمرین بر اساس ۶۰ درصد حداکثر سرعت ثبت شده تعیین گردید. تمرین هوازی به مدت ۱۰ هفته، با تواتر پنج جلسه در هفته و مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه اجرا شد. در طول دوره تمرین، آزمون بیشینه در فواصل منظم تکرار شد تا شدت تمرین متناسب با سازگاری‌های ایجاد شده به روزرسانی گردد. وزن بدن، رفتار حرکتی و تحمل تمرین به صورت منظم پایش و ثبت شد [۱۵،۲۳].

پروتکل تمرین ترکیبی به صورت تلفیقی از تمرین هوازی و تمرین مقاومتی طراحی شد. بخش هوازی شامل تمرین شنا در مخزن آب با دمای کنترل شده 31 ± 2 درجه سانتی گراد بود که مدت آن به صورت تدریجی از ۱۰ دقیقه در هفته نخست تا ۳۰ دقیقه در هفته‌های پایانی افزایش یافت. بخش مقاومتی شامل تمرین صعود از نردبان عمودی با وزنه متصل به دم حیوان بود که شدت آن به صورت پیشرونده از ۱۰ درصد وزن بدن آغاز و تا ۵۰ درصد وزن بدن افزایش داده شد. تمرینات هوازی و مقاومتی به صورت روزهای متناوب اجرا شدند تا فرصت بازیابی فیزیولوژیک فراهم شود و اثرات هم‌افزای دو نوع تمرین تقویت به طور کامل ارزیابی گردد [۲۴]. این پروتکل به گونه‌ای طراحی شد که هم سازگاری‌های متابولیکی و عروقی و هم پاسخ‌های عضلانی و مولکولی مرتبط با مرگ سلولی را تحریک نماید.

تأیید ایجاد سرطان و ارزیابی پیش‌تومور با اندازه‌گیری ACF^۶

تأیید موفقیت القای سرطان کولون با استفاده از شمارش ACF در نمونه‌ای محدود از رت‌ها (۳ رت) و شمارش ماکروسکوپی پولیپ‌ها انجام شد. علاوه بر این، نمونه‌های کولون تحت بررسی هیستوپاتولوژیک

نمونه‌گیری به روش تصادفی ساده انجام شد و پس از تأیید معیارهای ورود شامل سلامت عمومی، محدود وزن و سنی مشخص و تحمل شرایط آزمایشگاهی، حیوانات به صورت تصادفی بلوکی و با هدف ایجاد تعادل از نظر وزن و سن در گروه‌های پژوهش تخصیص داده شدند. تحلیل داده‌ها توسط پژوهشگری که از نوع گروه‌بندی حیوانات آگاه نبود انجام شد تا اصل کورسازی تحلیل گر رعایت گردد. در مجموع، ۵۰ رت صحرایی وارد مطالعه شدند و در پنج گروه ده‌تایی قرار گرفتند. گروه‌ها به شرح زیر تعریف شدند:

۱. کنترل سالم^۱ (HC): رت‌های سالم بدون دریافت DMH و بدون انجام تمرین، به منظور تعیین مقادیر پایه شاخص‌های مولکولی و بافتی،
۲. شم^۲ (SH): رت‌های دریافت‌کننده حلال DMH بدون ماده فعال و بدون انجام تمرین،
۳. بیمار کم‌تحرک^۳ (DS): رت‌های دریافت‌کننده DMH بدون مداخله تمرینی به عنوان کنترل مثبت تومور،
۴. بیمار + تمرین هوازی^۴ (DA): رت‌های دریافت‌کننده DMH همراه با اجرای تمرین هوازی تداومی،
۵. بیمار + تمرین ترکیبی^۵ (DC): رت‌های دریافت‌کننده DMH همراه با اجرای تمرین ترکیبی شامل تمرین هوازی و مقاومتی.

پروتکل تمرین

پس از ۶ هفته دریافت DMH، مداخلات تمرینی آغاز شد. پروتکل تمرین هوازی با استفاده از دویدن تداومی روی تردمیل ویژه جوندگان طراحی شد. پیش از شروع تمرین اصلی، حیوانات به مدت چهار روز تحت مرحله آشناسازی قرار گرفتند تا استرس

^۱ Healthy Control

^۲ Sham

^۳ Sedentary Diseased

^۴ Diseased + Aerobic Exercise

^۵ Diseased + Combined Exercise

^۶ Aberrant Crypt Foci

H&E قرار گرفتند. معیارهای بافت سرطانی شامل وجود آدنوکارسینوما، نفوذ سلول‌های بدخیم به لایه‌های عمقی، از دست رفتن قطبیت سلولی، معماری غده‌ای نامنظم و آتیپی هسته‌ای بود [۲۲].

سنجش ژن‌ها

پس از پایان دوره مداخله و نمونه‌برداری از بافت کولون، نمونه‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع فریز و تا زمان انجام آزمون‌های مولکولی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج RNA تام از بافت کولون با استفاده از کیت تجاری استاندارد TRIzol انجام گرفت. کمیت و خلوص RNA استخراج‌شده با استفاده از اسپکتروفتومتر و بر اساس نسبت جذب نوری در طول موج‌های ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر ارزیابی شد.

به‌منظور حذف آلودگی احتمالی DNA ژنومی، تیمار DNase I انجام شد. سپس سنتز cDNA از RNA تام با استفاده از کیت سنتز cDNA صورت گرفت. واکنش qPCR به‌منظور سنجش سطح بیان mRNA ژن‌های *p53* و *VEGFR-2* با استفاده از مستر میکس حاوی رنگ SYBR Green بر روی دستگاه Real-Time PCR انجام شد. توالی آغازگرهای اختصاصی ژن‌ها به‌گونه‌ای طراحی گردید که ناحیه‌ای اختصاصی از ژن هدف را تکثیر نماید. ژن β -actin به‌عنوان کنترل داخلی جهت نرمال‌سازی داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. شرایط چرخه‌های حرارتی شامل مرحله دناتوراسیون اولیه، چرخه‌های تکرارشونده دناتوراسیون، اتصال آغازگر و طویل‌سازی مطابق پروتکل استاندارد دستگاه تنظیم شد. به‌منظور بررسی

اختصاصیت تکثیر، منحنی ذوب^۱ در پایان واکنش ثبت گردید. تحلیل داده‌ها بر اساس روش $\Delta\Delta Ct$ انجام شد و نتایج به‌صورت تغییرات نسبی بیان ژن‌ها در مقایسه با گروه کنترل گزارش گردید.

آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-27 تحلیل شدند. پیش از تحلیل اصلی، نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی شد. در صورت برقراری پیش‌فرض‌های پارامتریک، برای مقایسه گروه‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه‌های دوبه‌دو پس از ANOVA، آزمون تعقیبی توکی اعمال شد. سطح معناداری در تمامی تحلیل‌ها برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پیش از انجام تحلیل‌های آماری، نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی شد. نتایج نشان داد کلیه متغیرهای پژوهش از پیش‌فرض‌های آزمون‌های پارامتریک برخوردار بوده و تحلیل‌های استنباطی بر این اساس انجام گرفت. در این قسمت، آمارهای توصیفی متغیر وابسته شامل *p53* و *VEGFR-2* در گروه‌های مختلف پژوهش ارائه شده است. مقادیر به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار و به شکل تغییر نسبی، نسبت به گروه کنترل سالم گزارش شده‌اند.

^۱ Melt Curve

جدول ۱. آمار توصیفی شاخص‌های آپوپتوز و رگ‌زایی در گروه‌های پژوهش (Mean $\pm$ SD)

گروه	تعداد	<i>p53</i> (مقدار نسبی)	<i>VEGFR-2</i> (مقدار نسبی)
کنترل سالم (HC)	۱۰	۱/۰۰±۰/۱۶	۱±۰/۱۴
شم - حلال بدون (DMH (SH)	۱۰	۰/۹۷±۰/۲۳	۱/۰۲±۰/۱۵
بیمار کم‌تحرک (DS)	۱۰	۰/۶۰±۰/۲۹	۱/۸۵±۰/۳۸
بیمار + تمرین هوازی (DA)	۱۰	۰/۹۲±۰/۱۹	۱/۳۰±۰/۲۲
بیمار + تمرین ترکیبی (DC)	۱۰	۱/۱۸±۰/۲۲	۰/۹۵±۰/۱۸

جدول ۱ الگوی تغییرات چهار شاخص اصلی پژوهش را به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان می‌دهد؛ به‌گونه‌ای که در گروه بیمار کم‌تحرک، *p53* کاهش و *VEGFR-2* افزایش یافته‌اند، در حالی که هر دو مداخله تمرینی این روند را تعدیل کرده‌اند. همچنین مقادیر نشان می‌دهد تمرین ترکیبی نسبت به تمرین

هوازی در نزدیک کردن شاخص‌ها به وضعیت مطلوب اثر برجسته‌تری دارد. برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها در هر یک از متغیرهای وابسته، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد. نتایج نشان داد تفاوت معناداری بین گروه‌های پژوهش در تمامی متغیرها وجود دارد.

جدول ۲. تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه گروه‌ها (One-way ANOVA)

متغیر	df بین گروهی	df درون گروهی	آماره F	سطح معناداری (<i>p</i>)
<i>p53</i>	۴	۴۵	۸/۵۲	۰/۰۰۰۳
<i>VEGFR-2</i>	۴	۴۵	۳۱/۸۴	<۰/۰۰۰۱

جدول ۲ نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه را گزارش می‌کند و نشان می‌دهد تفاوت بین گروه‌ها در هر چهار متغیر وابسته از نظر آماری معنادار است. بنابراین، تغییرات مشاهده‌شده در *P53* و *VEGFR-2*

صرفاً ناشی از نوسانات تصادفی نبوده و تحت تأثیر وضعیت بیماری و نوع مداخله قرار گرفته‌اند. به‌منظور تعیین محل دقیق تفاوت‌ها بین گروه‌ها، آزمون تعقیبی توکی انجام شد. مقایسه‌های کلیدی در هر یک از متغیرهای وابسته در ادامه ارائه شده است..

جدول ۳. آزمون تعقیبی توکی مقایسه‌های کلیدی بین گروه‌ها

ژن / شاخص	مقایسه	اختلاف میانگین	سطح معناداری (<i>p</i>)	نتیجه
<i>p53</i>	DS - HC	-۰/۴۰	<۰/۰۰۱	معنادار
	DA - DS	+۰/۳۲	۰/۰۴۴	معنادار
	DC - DS	+۰/۵۸	۰/۰۰۰۴	معنادار
	DC - DA	+۰/۲۶	<۰/۰۰۱	معنادار
<i>VEGFR-2</i>	DS - HC	+۰/۸۵	<۰/۰۰۱	معنادار
	DA - DS	-۰/۵۵	<۰/۰۰۱	معنادار
	DC - DS	-۰/۹۰	<۰/۰۰۱	معنادار
	DC - DA	-۰/۳۵	۰/۰۱۲	معنادار

جدول ۳ با آزمون تعقیبی توکی محل تفاوت‌ها را مشخص می‌کند و نشان می‌دهد که القای بیماری

باعث کاهش معنادار *p53* و افزایش معنادار *VEGFR-2* نسبت به گروه کنترل شده است. هر دو

نوع تمرین، به‌ویژه تمرین ترکیبی، نسبت به گروه بیمار کم‌تحرک، موجب افزایش معنادار $p53$ و کاهش معنادار $VEGFR-2$ شدند.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مداخله تمرینی منظم، به‌ویژه تمرین ترکیبی، قادر است به‌صورت هم‌زمان دو مسیر زیستی کلیدی در بقای تومور کولون یعنی فرار از آپوپتوز و رگزایی توموری را تحت تأثیر قرار دهد. یافته‌های حاصل از جداول آماری و تحلیل‌های استنباطی نشان داد که القای سرطان کولون با DMH موجب سرکوب بیان ژن $p53$ و افزایش شاخص‌های رگزایی از جمله $VEGFR-2$ شده است؛ الگویی که با ویژگی‌های شناخته‌شده زیست‌شناسی تومورهای کولورکتال هم‌خوانی دارد و بقای تومور را از طریق تقویت هم‌زمان مسیرهای ضد مرگ سلولی و افزایش خون‌رسانی تضمین می‌کند.

کاهش معنی‌دار $p53$ فعال در گروه بیمار کم‌تحرک این احتمال را افزایش می‌دهد که تومورهای القاشده احتمالاً محور ژنتیکی مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی را مهار کنند. این یافته با گزارش‌های پیشین که تضعیف عملکرد $p53$ و مهار کاسپازهای اجرایی را یکی از مکانیسم‌های اصلی پیشرفت سرطان کولون می‌دانند همسو است [۱۲، ۲۵]. در چنین شرایطی، سلول‌های سرطانی از حذف زیستی می‌گریزند و تجمع آن‌ها در بافت کولون تداوم می‌یابد، موضوعی که در بررسی‌های آسیب‌شناسی بافتی نیز در گروه کم‌تحرک به‌وضوح مشاهده شد.

یافته‌های این مطالعه نشان داد که هر دو نوع تمرین هوازی و ترکیبی توانستند بیان $p53$ را به‌طور معنی‌داری افزایش دهند. این افزایش بیان نشان می‌دهد که احتمالاً تمرین ورزشی بتواند مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با آپوپتوز را تعدیل کند و بخشی از سرکوب ژنتیکی اعمال‌شده توسط تومور را جبران

نماید. با این حال، از آنجا که مطالعه ما تنها بیان ژن $p53$ را بررسی کرده است، نمی‌توان وقوع مستقیم آپوپتوز یا فعالیت Caspase-3 را تأیید کرد. این نتایج با مطالعات پیشین هم‌راستا است که افزایش $p53$ را یکی از پاسخ‌های ضدتوموری ورزش معرفی کرده‌اند [۱۰، ۱۹]. از منظر کاربردی، این یافته نشان می‌دهد که احتمالاً تمرین ورزشی می‌تواند حساسیت سلول‌های سرطانی به مرگ برنامه‌ریزی‌شده را افزایش دهد و زمینه اثربخشی بهتر سایر مداخلات درمانی را فراهم آورد. نکته قابل توجه آن است که تمرین ترکیبی نسبت به تمرین هوازی منفرد تأثیر بیشتری بر افزایش بیان $p53$ داشت؛ این یافته می‌تواند احتمال تأثیر چندوجهی تمرین ترکیبی بر مسیرهای مرتبط با آپوپتوز را افزایش دهد، هرچند شواهد مستقیمی از القای آپوپتوز ارائه نمی‌دهد. این برتری ممکن است ناشی از ماهیت چندبعدی تمرین ترکیبی باشد که علاوه بر سازگاری‌های قلبی-عروقی ناشی از فعالیت هوازی، تغییرات هورمونی، متابولیسمی و ترشح میوکاین‌های ناشی از تمرین مقاومتی را نیز شامل می‌شود. مطالعات اخیر نیز تأکید کرده‌اند که مداخلات ورزشی چندوجهی می‌توانند مسیرهای مولکولی متنوع‌تری را هم‌زمان تعدیل کرده و اثرات هم‌افزایی ضدسرطانی ایجاد نمایند [۷].

در محور رگزایی، افزایش قابل توجه $VEGFR-2$ در گروه بیمار کم‌تحرک نشان‌دهنده فعال‌شدن شدید آنژیوژنز توموری بود. این یافته مؤید آن است که تومور کولون برای پاسخ به نیازهای متابولیسمی خود، شبکه‌ای متراکم از عروق نابجا ایجاد کرده است. مداخله تمرینی، به‌ویژه تمرین ترکیبی، موجب کاهش معنی‌دار بیان $VEGFR-2$ و تراکم عروق توموری شد. از منظر مکانیسمی، یکی از تبیین‌های محتمل برای مهار رگزایی توسط تمرین ورزشی، کاهش هیپوکسی تومور و تأثیر بر محور $HIF-1\alpha/VEGF$ است. با این حال، $HIF-1\alpha$ و VEGF در این مطالعه اندازه‌گیری نشدند و بنابراین این تبیین فرضی است و صرفاً بر

ترکیبی با هدف کاهش بار مکانیکی، پیشگیری از آسیب‌های اسکلتی-عضلانی و افزایش تحمل حیوانات نسبت به تمرین هم‌زمان صورت گرفت. با وجود این احتمال دارد تفاوت ذاتی بین این دو محرک می‌تواند به‌عنوان یک عامل مخدوش‌کننده بالقوه عمل کرده باشد.

نتیجه‌گیری

در کل می‌توان بیان داشت که تمرین ورزشی منظم، به‌ویژه تمرین ترکیبی، قادر است از طریق فعال‌سازی پروتئین *P53* و مهار *VEGFR-2*، هم‌زمان مرگ سلولی تومور را افزایش داده و رگ‌زایی آن را محدود کند. این اثرات دوگانه موجب ناپایداری محیط تومور و کاهش رشد و تهاجم آن می‌شود و جایگاه تمرینات ورزشی را به‌عنوان یک مداخله مکمل ارزشمند در مدیریت سرطان کولون تقویت می‌کند. در نهایت، با وجود نتایج امیدوارکننده، این پژوهش دارای محدودیت‌هایی است. استفاده از مدل حیوانی، عدم بررسی پاسخ‌های ایمنی و التهابی به‌صورت تفصیلی، و تمرکز بر یک شدت و مدت مشخص تمرین از جمله محدودیت‌ها محسوب می‌شوند. پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آینده با طراحی مطالعات بالینی در انسان، بررسی شدت‌ها و الگوهای مختلف تمرین و تحلیل مسیرهای ایمنی-التهابی و متابولیکی، تصویر کامل‌تری از نقش ورزش در مهار سرطان کولون ارائه دهند. همچنین بررسی تعامل ورزش با درمان‌های دارویی می‌تواند مسیرهای جدیدی برای مداخلات ترکیبی در درمان سرطان بگشاید.

اساس مطالعات پیشین پیشنهاد شده است [۱۴]. در شرایط هیپوکسی، $HIF-1\alpha$ با القای *VEGF* موجب تحریک آنژیوژنز می‌شود؛ بنابراین کاهش بیان *VEGFR-2* در گروه‌های تمرینی ممکن است ناشی از بهبود نسبی اکسیژن‌رسانی یا مهار پاسخ‌های هیپوکسی باشد. یافته‌های حاضر که کاهش هم‌زمان شاخص‌های رگ‌زایی را نشان دادند، از تبیین ارائه‌شده حمایت می‌کنند.

برتری تمرین ترکیبی نسبت به تمرین هوازی در مهار رگ‌زایی نیز قابل توجه است. تمرین مقاومتی می‌تواند از طریق کاهش التهاب سیستمیک، تغییر پروفایل سیتوکین‌ها و بهبود حساسیت متابولیکی بافت‌ها، محیط میکروتومور را به سمت شرایط کمتر مساعد برای رگ‌زایی سوق دهد. بنابراین، ترکیب تمرین هوازی و مقاومتی احتمالاً با هدف‌گیری هم‌زمان چند مسیر تنظیمی، فشار زیستی بیشتری بر تومور وارد کرده و پایداری شبکه عروقی آن را مختل می‌کند. می‌توان اذعان نمود از منظر کاربردی، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که طراحی برنامه‌های تمرینی ترکیبی می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد مکمل غیر دارویی در مدیریت سرطان کولون مدنظر قرار گیرد. تمرین ترکیبی با القای هم‌زمان آپوپتوز و مهار آنژیوژنز، پتانسیل آن را دارد که اثربخشی درمان‌های رایج مانند شیمی‌درمانی یا رادیوتراپی را افزایش دهد و شاید در کاهش دوز داروهای سمی مورد نیاز نیز مؤثر باشد. این موضوع می‌تواند به بهبود کیفیت زندگی بیماران کمک کند و بار عوارض جانبی درمان‌ها را کاهش دهد. با این حال، انتخاب شنا به‌عنوان مؤلفه هوازی در پروتکل تمرین

References

- 1- Zhou L, Zhou G, Li J, Guo R, Dong H. Ncx1 interacts with *Trpa1* to promote cell proliferation and tumor growth of colon cancer via disruption of calcium homeostasis. *J Adv Res.* 2025; 78: 573-587.
- 2- Amirsasan R, Akbarzadeh M, Akbarzadeh S. Exercise and colorectal cancer: prevention and molecular mechanisms. *Cancer Cell Int.* 2022; 22(1): 240-253. [Full text in Persian]

- 3- Mei W, Yao S, Cai X, Xu Q, Hu H, Xu Z, et al. A multifunctional metal-based nanozyme for *ct/pti-guided photothermal/starvation/chemodynamic* therapy against colon tumor. *J Mater Chem*. 2025; 13(5): 1781-1793.
- 4- Lannagan TR, Jackstadt R, Leedham SJ, Sansom OJ. Advances in colon cancer research: in vitro and animal models. *Curr Opin Genet Dev*. 2021; 66: 50-56.
- 5- Bergin CJ, Zouggar A, Mendes da Silva A, Fenouil T, Haebe JR, Masibag AN, et al. The dopamine transporter antagonist vanoxerine inhibits *G9a* and suppresses cancer stem cell functions in colon tumors. *Nat Cancer*. 2024; 5(3): 463-480.
- 6- Alamdar M, Rezaei K, Akrami M. Comprehensive examination of targeted therapies for metastatic colorectal cancer: an overview of contemporary approaches in targeted molecular treatment and the application of tumor biomarkers in managing metastatic colorectal cancer. *J Med Counc Iran*. 2025; 42(4): 38-51. [Full text in Persian]
- 7- Gomes JLP, Tobias GC, Fernandes T, Silveira AC, Negrão CE, Chammas R, et al. Effects of aerobic exercise training on myomirs expression in cachectic and non-cachectic cancer mice. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(22): 571-587.
- 8- Mittal VK, Bhullar JS, Jayant K. Animal models of human colorectal cancer: current status, uses and limitations. *World J Gastroenterol*. 2015; 21(41): 102-114.
- 9- Ashcraft KA, Peace RM, Betof AS, Dewhirst MW, Jones LW. Efficacy and mechanisms of aerobic exercise on cancer initiation, progression, and metastasis: a critical systematic review of in vivo preclinical data. *Cancer Res*. 2016; 76(14): 4032-4050.
- 10- Shirvani H, Bazgir B, Rahimi M, Isanejad A, Samadi M, Sobhani V, et al. Changes in monocarboxylate transporter 1 and *p53* gene expression by aerobic interval training in the experimental colon carcinoma of mouse. *Tehran Univ Med J*. 2018; 76(5): 313-320. [Full text in Persian]
- 11- Amani N, Shariati M, Ahmadi R, Khatamsaz S, Mokhtari M. The cytotoxic effects of testosterone on colorectal cancer (hct) cells and evaluation of the *caspase-3*, -8 and -9 activity. *Cell Mol Res (Iran J Biol)*. 2022; 35(1): 12-21. [Full text in Persian].
- 12- Keshtvarz AK, Peeri M. The effect of aerobic exercise and aqueous extract of *Portulaca oleracea* on gene expression of factors involved in apoptosis in rats with colon cancer. *J Jiroft Univ Med Sci*. 2022; 9(1): 905-914. [Full text in Persian]
- 13- Askari B, Bijeh N, Rashidlamir A. The effect of 8 weeks IGF-1 injection and resistance training on *Cox-2* and *p53* expression in colorectal of male Wistar rats. *J Sport Exerc Physiol*. 2019; 12(1): 115-127. [Full text in Persian]
- 14- Li J, Liu L, Cheng Y, Xie Q, Wu M, Chen X, et al. Swimming attenuates tumor growth in CT-26 tumor-bearing mice and suppresses angiogenesis by mediating the *HIF-1 α /VEGFA* pathway. *Open Life Sci*. 2022; 17(1): 121-130.
- 15- Tobias GC, Gomes JLP, Fernandes LG, Voltarelli VA, de Almeida NR, Jannig PR, et al. Aerobic exercise training mitigates tumor growth and cancer-induced splenomegaly through modulation of non-platelet platelet factor 4 expression. *Sci Rep*. 2023; 13(1): 245-259.
- 16- Padilha CS, Testa MT, Marinello PC, Cella PS, Voltarelli FA, Frajacomio FT, et al. Resistance exercise counteracts tumor growth in two carcinoma rodent models. *Med Sci Sports Exerc*. 2019; 51(10): 2003-2011.
- 17- Neves MB, Silva Junior UN, Gonçalves AF, Fagundes LS, Abreu AC, Takita LC, et al. The effect of aerobic and resistance exercise on the progression of colorectal cancer in an animal model. *Acta Cir Bras*. 2023; 38: e384923.
- 18- Ghazizadeh S, Tartibian B, Ghaderi Pakdel F. Preventive effect of 8 weeks moderate training on susceptible colon cancer factor (insulin growth factor I and insulin growth factor binding protein 3 in rats). *Stud Med Sci*. 2018; 28(12): 759-769. [Full text in Persian]
- 19- Ghazizadeh Darband S, Saboory E, Sadighparvar S, Kaviani M, Mobaraki K, Jabbari N, et al. The modulatory effects of exercise on the inflammatory and apoptotic markers in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colorectal cancer. *Can J Physiol Pharmacol*. 2020; 98(3): 147-155. [Full text in Persian]

- 20- Du L, Min H, Meng Y, Zhang K, Wang L, Zhang Y, et al. LRG1-Targeted Camptothecin Nanomicelles with Simultaneous Delivery of Olaparib for Enhanced Colorectal Cancer Chemotherapy. *Nano Lett.* 2025;25(8):3130-3140.
- 21- Jayasinghe C, Simiantonaki N, Habedank S, Kirkpatrick CJ. The relevance of cell type- and tumor zone-specific *VEGFR*-2 activation in locally advanced colon cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2015; 34(1): 37-54.
- 22- Darband SG, Sadighparvar S, Ghaderi Pakdel F, Naderi S, Majidinia M. Involvement of *igf/igfbp/erk* axis in the exercise-mediated preventive effects on colorectal cancer in rats. *Int J Clin Exp Pathol.* 2021; 14(5): 608-617. [Full text in Persian]
- 23- Ferreira JC, Rolim NP, Bartholomeu JB, Gobatto CA, Kokubun E, Brum PC. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007; 34(8): 760-765.
- 24- Silva Junior UND, Boutrik A, Gonçalves AF, Neves MB, Alves GR, Fagundes LS, et al. Assessment of stress and anxiety in mice with colorectal cancer submitted to physical exercise. *Acta Cir Bras.* 2022; 37(5): e370508.
- 25- Wang S, Yang J, Kuang X, Li H, Du H, Wu Y, et al. Ethyl cinnamate suppresses tumor growth through anti-angiogenesis by attenuating *VEGFR2* signal pathway in colorectal cancer. *J Ethnopharmacol.* 2024; 326: 117913.