

## Effect of endurance training and the consumption of gallic acid and Kaempferol on the expression of *ARC*, *VEGF $\alpha$* , *HIF1 $\alpha$* , and *CREB1* genes in mice with breast cancer treated with paclitaxel

Zeytoon Malekpoor<sup>1</sup>, Farzaneh Taghian<sup>1\*</sup>, Khosro Jalali Dehkordi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

### Abstract

**Introduction:** Breast cancer is the most common cancer. Therapeutic strategies reduce neurogenesis in treated patients. The present study aimed to assess the effect of endurance training along with the combination of gallic acid and Kaempferol on neurogenesis in the hippocampus caused by the side effects of paclitaxel in mice with breast cancer.

**Methods:** The mice were randomly assigned to six groups (n=6), including control group, the group with breast cancer injected with 4T1 cell line, the cancer group that received paclitaxel (10 mg/kg), cancer group treated with paclitaxel and gavage supplemented with Kaempferol and gallic acid, cancer group treated with paclitaxel and endurance exercise, the cancer group treated with paclitaxel and endurance training and supplements. Gene expression was measured by the Real Time-Polymerase Chain Reaction (PCR) method. Genes were selected using bioinformatics software. In this study, statistical analysis was performed using GraphPad Prism software (version 9). Data were calculated using one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test. Results were presented as mean±standard deviation. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant.

**Results:** The expression of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* increased significantly (P<0.05) due to the consumption of gallic acid, kaempferol, and endurance training in mice treated with paclitaxel. Moreover, the expression level of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* genes increased in the endurance training group and the supplement (P<0.05). On the other hand, breast cancer has increased the expression of *HIF1 $\alpha$*  gene (P<0.05). Endurance training and supplement consumption significantly reduced the expression of the *HIF1 $\alpha$*  gene (P<0.05).

**Conclusion:** Endurance training, along with gallic acid and Kaempferol, regulated the expression of *ARC*, *VEGF $\alpha$* , *HIF1 $\alpha$* , and *CREB1* genes in the brain tissue of mice with breast cancer treated with paclitaxel.

### Keywords

Breast cancer, Chemotherapy, Endurance training, Paclitaxel.

Received: 2023/08/12  
Accepted: 2024/02/05

\*Corresponding Author:  
ft.taghian@gmail.com

Ethics Approval:  
IR.IAU.KHUISF.REC.1401.104



## Introduction

Breast cancer is currently the most commonly diagnosed cancer around the world. The latest global cancer statistics estimate that 2.26 million cases of breast cancer occurred in 2020, making it the leading cause of cancer-related deaths in women across the globe (1). Paclitaxel is widely used to treat breast cancer patients (2). The most critical side effect of paclitaxel is peripheral nerve toxicity, known as peripheral neuropathy (3). Moreover, studies have demonstrated that *HIF1 $\alpha$*  increases neurogenesis in the hippocampus by activating the brain-derived neurotrophic factor signaling pathway (4). In addition, *HIF1 $\alpha$* , the main hypoxia-responsive transcription factor, may benefit neurogenesis since its target genes have been erythropoietin and vascular endothelial growth factor (*VEGF $\alpha$* ). It has been illustrated that *VEGF $\alpha$*  and *HIF1 $\alpha$*  cause neurogenesis in animal models. Indeed, *VEGF $\alpha$*  signaling plays an essential role in neurogenesis (2). The *CREB1* and *ARC* regulate embryonic and adult neurogenesis (5). Various approaches are offered to reduce the side effects of chemotherapy in cancer patients. Physical activity may reduce cancer mortality, especially breast cancer (5). Studies have indicated that nutritional factors, herbal supplements, and their effective compounds may help cancer treatment (6). Gallic acid is a polyphenol compound with various biological activities, such as antioxidant, anti-inflammatory, anti-tumor, antiviral, and antibacterial effects (7). Kaempferol is another aglycone flavonoid in glycoside form. Protecting the proper functioning of the cardiovascular and nervous systems, as well as antioxidant, anti-inflammatory, anti-diabetic, antimicrobial, and anticancer activities, are among the activities of the effective composition of Kaempferol (7). In light of the aforementioned issues, the present study aimed to assess the effect of endurance training in combination with acid and Kaempferol on the neurogenic of the brain caused by the side effects of paclitaxel.

## Materials & Methods

All protocols and interventions of laboratory animals were reviewed and approved by the Ethics Committee of Islamic Azad University, Khorasgan branch (IR.IAU.KHUISF.REC.1401.104). A total of 36 female mice were purchased from the Isfahan Royan Institute from the BALB/c strain (aged seven weeks, weighing 18 $\pm$ 2 grams). The mice were randomly assigned to six groups, including control group (n=6), the group with breast cancer injected with 4T1 cell line (n=6), the cancer group that received paclitaxel (10 mg/kg), cancer group treated with paclitaxel and gavage supplemented with Kaempferol and gallic acid, cancer group treated with paclitaxel and endurance exercise, the cancer group treated with paclitaxel and endurance training and supplements. In this study, we reviewed DisGeNet and STRING databases to determine critical genes in breast cancer and cognitive disorders.

### Breast tumor induction method

4T1 cell line was used to induce breast cancer. 4T1 cells were obtained from the Pasteur Institute of Tehran and cultivated in the cell culture laboratory to achieve the required cells. Finally, 24 hours after the last training and treatment session, the mice were anesthetized with ketamine and xylazine at a ratio of 10 mg to 1 mg, and the hippocampal brain tissue was isolated for further experiments and sent to the laboratory by maintaining a cold temperature chain.

### Chemotherapy guidelines

10 mg/kg body weight of mice paclitaxel and dimethyl sulfoxide (DMSO) were injected intraperitoneally daily for seven consecutive days (8).

### Instructions for endurance training

A week after adaptation, it was performed for 10-15 minutes at a speed of 8-12 meters per minute. Eight weeks of endurance training with a slope of 0 degrees, at a speed of 18 m/min for 30 minutes, and moderate intensity exercises were performed five days a week (9).

### Consumption of gallic acid and Kaempferol

200 mg/kg body weight of mice of gallic acid and kaempferol (Sigma Company) was dissolved in 5% DMSO and fed to mice by oral gavage for eight weeks (10).

### Examining the expression of genes by Real-time polymerase chain reaction method

RNA extraction from brain hippocampal tissue was performed using the Trizol method based on the Yekta Tehiz Azma company protocol. cDNA synthesis was performed according to the BIOFACT kit protocol. Gene expression analysis was performed and evaluated using the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method.

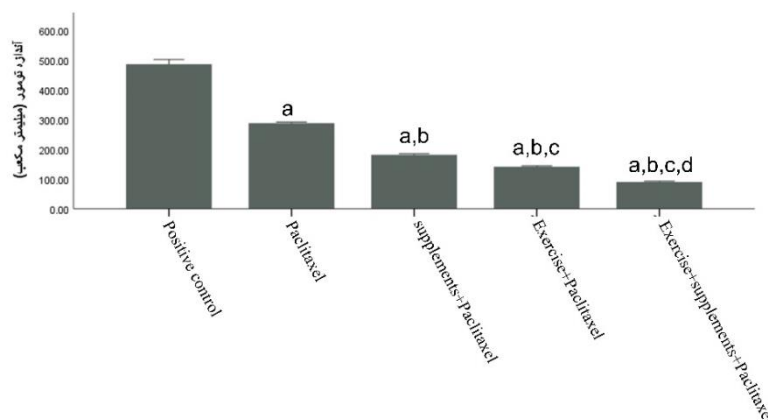
### Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using GraphPad Prism software (version 9). Moreover, in this study, the Shapiro-Wilk test was used for the normality of the data. All data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test. Results were expressed as mean±standard deviation. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant.

### Results

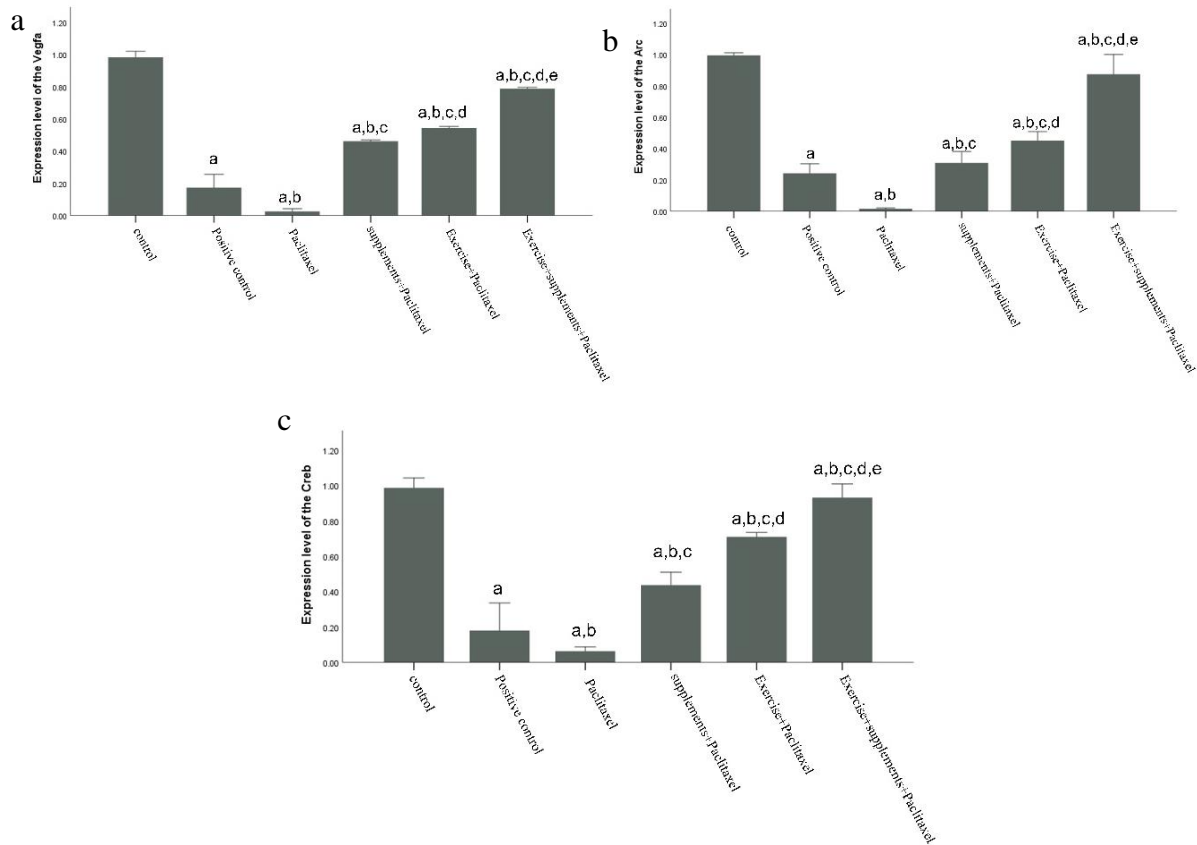
In bioinformatic analysis, the list of genes to breast cancer includes 6,941 genes, and the

list of genes related to cognition comprises 1,630 genes. Tumor size has significantly decreased compared to the positive control group due to consuming bioactive compounds of gallic acid and Kaempferol and performing endurance exercises ( $P<0.05$ ; Figure 1). It was revealed that the expression of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* was significantly decreased in the positive control group. The expression level of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* genes in the paclitaxel group significantly decreased compared to the breast cancer group ( $P<0.05$ ; Figure 2 a-c). Moreover, the data indicated that the relative expression of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* increased significantly in supplement+paclitaxel and exercise+paclitaxel groups ( $P<0.05$ ; Figure 2 a-c). In addition, the simultaneous performance of endurance exercise and supplemental consumption of bioactive compounds (exercise+supplement+paclitaxel) increased the expression of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* genes compared to other groups ( $P<0.05$ ; Figure 2 a-c). The expression of the *HIF1 $\alpha$*  gene in the positive control group was significantly increased compared to the control group ( $P<0.05$ ; Figure 3). The level of *HIF1 $\alpha$*  gene expression increased significantly compared to the positive control group ( $P<0.05$ ; Figure 3).

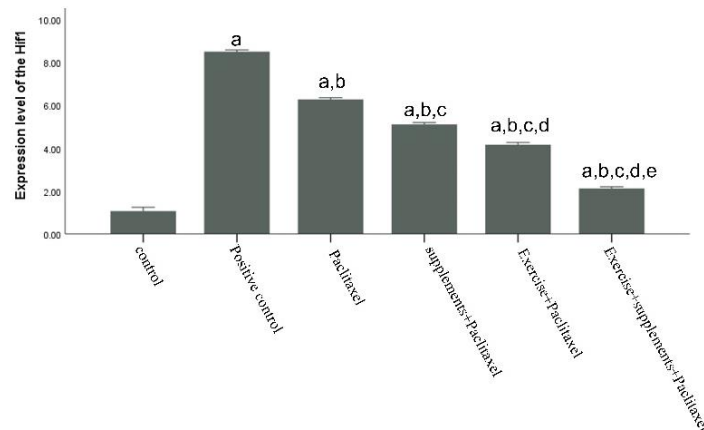


**Figure 1: Effect of Kaempferol, Gallic acid, and endurance training on tumor size in mice with breast cancer**

Data are displayed as mean±standard deviation. Tukey's post hoc test was used to identify significant differences between groups. Figure a indicates a significant difference between the experimental groups and the positive control group ( $P<0.05$ ). Figure b suggests a significant difference between the experimental groups and paclitaxel group ( $P<0.05$ ). Figure c display a significant difference between the experimental groups and the supplement+paclitaxel group ( $P<0.05$ ). Figure d depicts a significant difference between the experimental groups with exercise+paclitaxel group ( $P<0.05$ ).



**Figure 2: effect of Kaempferol, Gallic acid supplementation, and endurance training on the expression of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* genes in the hippocampal tissue of the brain of mice with breast cancer. Figure a indicates a significant difference between the experimental groups and the positive control group ( $P < 0.05$ ). Figure b presents a significant difference between the experimental groups and paclitaxel group ( $P < 0.05$ ). Figure c suggests a significant difference between the experimental groups and the supplement+paclitaxel group ( $P < 0.05$ ). Figure d illustrates a significant difference between the experimental groups and exercise+paclitaxel group ( $P < 0.05$ ).**



**Figure 3: effect of kaempferol, gallic acid supplementation, and endurance training on the expression of *HIF1 $\alpha$*  gene in the hippocampal tissue of mice with breast cancer. Figure a indicates a significant difference between the experimental groups and the positive control group ( $P < 0.05$ ). Figure b suggests a significant difference between the experimental groups and paclitaxel group ( $P < 0.05$ ). Figure c illustrates a significant difference between the experimental groups and the supplement+paclitaxel group ( $P < 0.05$ ). Figure d indicates a significant difference between the experimental groups with exercise+paclitaxel group ( $P < 0.05$ ).**

## Discussion

This study revealed that chemotherapy with paclitaxel caused a significant decrease in the expression of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* and a marked increase in the *HIF1 $\alpha$*  gene compared to the positive control group. Studies have pointed out that paclitaxel (10 mg/kg) causes significant cognitive impairment, along with changes in synaptic plasticity (11). It has been reported that the expression level of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* genes increased, and the level of *HIF1 $\alpha$*  gene expression decreased due to endurance training. A few studies have revealed that exercise programs can improve cognitive disorders (12). This study found that *HIF1 $\alpha$*  gene expression in the paclitaxel group decreased significantly compared to the positive control group. On the other hand, the expression of the *HIF1 $\alpha$*  gene has significantly decreased due to the consumption of gallic acid and kaempferol bioactive compounds and endurance training compared to mice induced with breast cancer and paclitaxel group. This research determined that the simultaneous use of gallic acid, kaempferol supplements, and endurance training has caused a significant decrease in *HIF1 $\alpha$*  gene expression compared to other groups.

The expression level of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* genes increased significantly, and the expression level of the *HIF1 $\alpha$*  gene decreased due to the consumption of gallic acid and kaempferol supplements in mice treated with chemotherapy by paclitaxel in mice with breast cancer. As a result, chemotherapy with paclitaxel reduces neurogenesis; moreover, endurance exercises and the use of gallic acid and kaempferol supplements can mitigate disruption in neurogenesis. Kaempferol induces cell apoptosis and senescence in human cervical cancer cells by downregulating PI3K/AKT pathways (13).

## Conclusion

As evidenced by the obtained results, gallic acid, kaempferol supplements, and endurance exercises in mice treated with chemotherapy by paclitaxel in mice with breast cancer caused

an increase in the expression of *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* genes.

## References

1. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *Ca Cancer J Clin.* 2023;73(1):17-48.
2. Li G, Zhao M, Cheng X, Zhao T, Feng Z, Zhao Y, et al. FG-4592 improves depressive-like behaviors through HIF-1-mediated neurogenesis and synapse plasticity in rats. *Neurotherapeutics.* 2020;17:664-75.
3. Pavlidis N. Cancer and pregnancy: what should we know about the management with systemic treatment of pregnant women with cancer? *European Journal of Cancer.* 2011;47:S348-S52.
4. Abedpoor N, Taghian F, Hajibabaie F. Physical activity ameliorates the function of organs via adipose tissue in metabolic diseases. *Acta histochemica.* 2022;124(2): 151844.
5. Leung H-W, Foo G, VanDongen A. Arc regulates transcription of genes for plasticity, excitability and Alzheimer's disease. *Biomedicines.* 2022;10(8):1946.
6. Kaviani E, Hajibabaie F, Abedpoor N, Safavi K, Ahmadi Z, Karimy A. System biology analysis to develop diagnostic biomarkers, monitoring pathological indexes, and novel therapeutic approaches for immune targeting based on maggot bioactive compounds and polyphenolic cocktails in mice with gastric cancer. *Environmental Research.* 2023;238:117168.
7. Bai J, Zhang Y, Tang C, Hou Y, Ai X, Chen X, et al. Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy.* 2021;133:110985.
8. Sólmo AM, Santacruz MS, Vanzulli S, Coggiola O, de Kier Joffé EB, Finkielstein L, et al. Anti-metastatic action of an N4-aryl substituted thiosemicarbazone on advanced triple negative breast cancer. *Heliyon.* 2020;6(10): e05161.

9. Vulczak A, Souza AdO, Ferrari GD, Azzolini AECS, Pereira-da-Silva G, Alberici LC. Moderate exercise modulates tumor metabolism of triple-negative breast cancer. *Cells*. 2020;9(3):628.
10. Wang T, Wu Q, Zhao T. Preventive effects of Kaempferol on high-fat diet-induced obesity complications in C57BL/6 mice. *BioMed research international*. 2020;2020:4532482.
11. Hajibabaie F, Abedpoor N, Mohamadynejad P. Types of cell death from a molecular perspective. *Biology*. 2023;12(11):1426.
12. Hartman SJ, Nelson SH, Myers E, Natarajan L, Sears DD, Palmer BW, et al. Randomized controlled trial of increasing physical activity on objectively measured and self-reported cognitive functioning among breast cancer survivors: The memory & motion study. *Cancer*. 2018;124(1):192-202.
13. Yoshida T, Konishi M, Horinaka M, Yasuda T, Goda AE, Taniguchi H, et al. Kaempferol sensitizes colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2008;375(1):129-33.

## تأثیر تمرینات استقامتی و مصرف گالیک اسید و کامپفرول بر بیان ژن‌های *ARC*، *VEGF $\alpha$* ، *HIF1 $\alpha$* و *CREB1* در موش‌های مبتلا به سرطان پستان تحت درمان با داروی پاکلیتاکسل

زیتون ملک‌پور<sup>۱</sup>، فرزانه تقیان<sup>۱\*</sup>، خسرو جلالی دهکردی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

### چکیده

**مقدمه:** سرطان پستان شایع‌ترین سرطان است. استراتژی‌های درمانی سبب کاهش نوروژایی در بیماران تحت درمان می‌شود. هدف تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرینات استقامتی و مکمل گالیک اسید و کامپفرول بر نوروژایی در هیپوکامپ، ناشی از عوارض جانبی مصرف پاکلیتاکسل در موش‌های مبتلا به سرطان پستان است.

**روش بررسی:** بطور تصادفی موش‌ها به شش گروه (n=۶) شامل: گروه کنترل، گروه مبتلا به سرطان پستان با تزریق رده سلولی 4T1، گروه سرطانی که داروی پاکلیتاکسل (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت شد، گروه سرطانی تحت تیمار با پاکلیتاکسل و گاواژ مکمل کامپفرول و گالیک اسید، گروه سرطانی تحت تیمار با پاکلیتاکسل و تمرین استقامتی، گروه سرطانی تحت تیمار با پاکلیتاکسل و تمرین استقامتی و مکمل تقسیم شدند. بیان ژن‌ها به روش Real Time-PCR سنجیده شد. ژن‌ها به کمک نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک انتخاب شدند. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار GraphPad-Prism نسخه ۹ انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون Tukey's post hoc محاسبه گردید. نتایج به‌عنوان میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد نشان داده شد و  $P.value < 0.05$  نشان‌دهنده معنی‌داری است.

**یافته‌ها:** بیان *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* در اثر مصرف گالیک اسید، کامپفرول و تمرینات استقامتی در موش‌های شیمی درمانی شده افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). همچنین، بیان *VEGF $\alpha$ /ARC/CREB* در گروه تمرین استقامتی همراه با مصرف مکمل افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). سرطان پستان سبب افزایش بیان *HIF1 $\alpha$*  شده است ( $p < 0.05$ ). تمرین استقامتی و مصرف مکمل میزان بیان *HIF1 $\alpha$*  را بطور معنی‌داری کاهش داده است ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** تمرین استقامتی و مصرف گالیک اسید و کامپفرول سبب تنظیم بیان *ARC*، *VEGF $\alpha$* ، *HIF1 $\alpha$*  و *CREB1* در بافت مغز موش‌های مبتلا به سرطان پستان می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین استقامتی، سرطان پستان، شیمی درمانی، پاکلیتاکسل

تاریخ ارسال: ۱۴۰۲/۰۵/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۶

\* نویسنده مسئول:

ft.taghian@gmail.com

## مقدمه

سرطان پستان در حال حاضر شایع‌ترین سرطان تشخیص داده شده در جهان است. آخرین آمار جهانی سرطان تخمین می‌زند که در سال ۲۰۲۰، ۲/۲۶ میلیون مورد سرطان پستان رخ داده است و این بیماری عامل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان در سراسر جهان است (۱). پیشرفت در استراتژی‌های تشخیصی و درمانی در سرطان‌شناسی شانس بقای بیماران سرطانی، حتی مبتلایان به بیماری متاستاتیک را به میزان قابل توجهی افزایش داده است (۲).

با این حال، مطالعات نشان داده است استراتژی‌های درمانی سبب کاهش نوروژایی و عملکرد نوروها در بیماران تحت درمان، به ویژه در طول و بعد از شیمی درمانی، می‌شود (۳). نسل‌های جدید درمان‌های هورمونی، درمان‌های هدفمند و ایمونوتراپی منجر به بهبود نرخ بقای برخی از بیماران شده است که البته تأثیر بالقوه‌ای بر میزان نوروژایی و عملکرد نوروها دارند (۴). در نتیجه، تأثیر منفی درمان طولانی‌مدت با داروهای شیمی درمانی بر عملکرد عصبی یک موضوع مهم از نظر کیفیت زندگی است (۵،۶). تحقیقات مدل حیوانی در تأیید اختلالات عصبی مرتبط با سرطان به‌عنوان یک وضعیت پزشکی در بازماندگان سرطانی که شیمی درمانی می‌شوند، مفید بوده است. مطابق مطالعات بالینی و پیش‌بالینی، محققان تأیید کرده‌اند که داروهای ضدسرطانی معمولاً سبب ایجاد اختلالات عصبی و کاهش نوروژایی در طولانی‌مدت می‌شود (۷).

پاکلیتاکسل به‌صورت گسترده برای درمان بیماران مبتلا به سرطان پستان استفاده می‌شود (۸). پاکلیتاکسل به  $\beta$ -توبولین میتوکندری متصل می‌شود و با باز کردن منافذ انتقال (mPTP) نفوذپذیری و افزایش کلسیم باعث آسیب به میتوکندری می‌شوند که این امر منجر به آپوپتوز و نکروز سلول سرطانی می‌شود (۷). یکی از عوارض جانبی استفاده از این دارو، سمیت دستگاه عصبی است که بر سیستم اعصاب محیطی و مرکزی اثرگذار است (۹).

مهم‌ترین عارضه جانبی پاکلیتاکسل سمیت عصب محیطی است که تحت عنوان نوروپاتی محیطی شناخته می‌شود (۱۰). نوروپاتی مزمن به‌طور قابل توجهی بر کیفیت زندگی بیمار در درازمدت اثرگذار است و منجر به کاهش دوز یا خاتمه شیمی‌درمانی شده و موفقیت در درمان را محدود

می‌سازد (۱۱). سمیت عصبی مرکزی به‌صورت انسفالوپاتی حاد، آتاکسی، پریشانی عاطفی، اختلال شناختی و تغییرات خلق‌و‌خو از جمله استرس و اضطراب ظاهر می‌شود (۱۱،۱۰). پاکلیتاکسل با اتصال به زیر واحد  $\beta$ -توبولین سبب افزایش سختی میکروتوبول و پایداری نابه‌هنگام آن شده و سلول را در فاز M چرخه سلولی را متوقف کرده و از تقسیم سلولی جلوگیری می‌کند و سبب مرگ سلولی می‌شود. پاکلیتاکسل با ایجاد پایداری نابه‌هنگام در میکروتوبول، سبب اختلال در سیتواسکلتون می‌شود و تعادل دینامیک بین باز و بسته شدن میکروتوبول‌ها را تغییر داده و با مختل کردن تشکیل دوک متافازی سبب توقف میتوز در G2/M می‌شود (۱۲). این دارو با یک نیمه عمر کوتاه متابولیزه می‌شود و به همین دلیل به‌منظور دستیابی به غلظت موردنیاز در طی دوره‌های مناسب زمانی، استفاده مکرر از دوزهای نسبتاً بالا ضروری است (۱۳). رده سلولی 4T1 یک رده سرطان پستان سه‌گانه منفی (TNBC<sup>1</sup>) است که تحت تأثیر مسیر سیگنالینگ PI3k-Akt-mTOR به داروهای هورمون درمانی یا داروهایی که پروتئین HER2 را هدف قرار می‌دهند پاسخ نمی‌دهد.

فعال شدن سیگنال‌دهی فاکتور ۱ القایی با هیپوکسی<sup>۲</sup> (HIF1 $\alpha$ ) در طیف وسیعی از سرطان‌های انسانی به دلیل هیپوکسی تومور و مکانیسم‌های اپی‌ژنتیک مشاهده می‌شود (۱۴). فعال‌سازی HIF1 $\alpha$  منجر به رونویسی تعداد زیادی از ژن‌های هدف می‌شود که تغییرات فیزیولوژیکی مرتبط با مقاومت درمانی، از جمله مهار آپوپتوز و پیری و فعال‌سازی جریان دارو و متابولیسم سلولی را افزایش می‌دهند (۱۴). در نتیجه، هدف قرار دادن HIF1 $\alpha$  نشان‌دهنده یک استراتژی جذاب برای افزایش اثربخشی درمان‌های فعلی و همچنین کاهش مقاومت در برابر شیمی‌درمانی در تومورها است (۱۴). از طرفی، مطالعات نشان داده است که HIF1 $\alpha$  سبب افزایش نوروژن در هیپوکامپ از طریق فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز<sup>۳</sup> (BDNF) می‌گردد (۱۵). علاوه‌براین، HIF1 $\alpha$  که فاکتور رونویسی اصلی پاسخ‌دهنده به هیپوکسی است، ممکن است اثرات مفیدی بر نوروژن ایجاد کند، زیرا ژن‌های هدف آن اریتروپویتین

<sup>1</sup> Triple-negative breast cancer

<sup>2</sup> Hypoxia-inducible factor 1-alpha

<sup>3</sup> Brain-derived neurotrophic factor

مغز شود. این اثرات نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی می‌تواند ابزاری جهت پیشگیری در برابر چالش اکسیداتیو مربوط به تخریب عصبی باشد (۲۴). تمرین هوازی می‌تواند متابولیسم مغز را بهبود بخشد و بیان فاکتور رشد را تنظیم کند که این امر منجر به انعطاف‌پذیری سیناپسی، نوروزن، و رگ‌زایی می‌شود و می‌تواند اثر مستقیمی بر عملکرد عصبی بگذارد (۲۵، ۲۱).

از طرفی، مطالعات نشان داده‌اند که عوامل تغذیه‌ای، مکمل‌های گیاهی و ترکیبات موثر آن‌ها نیز ممکن است اثرات شیمی درمانی را تحت تأثیر قرار داده و به درمان سرطان کمک کنند (۲۴، ۲۶). ترکیبات موثره از طریق کاهش یا حذف عوارض داروهای شیمی درمانی و کاهش مقاومت به این داروها می‌توانند اثربخشی درمان را بهبود ببخشند (۲۶). گالیک اسید یک ترکیب پلی‌فنول با فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف مانند آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضدتومور، ضدویروسی و ضدباکتری است (۲۷). مکمل گالیک اسید یک آنتی‌اکسیدان قوی و از مهم‌ترین ترکیبات پلی‌فنولی در گیاهان است قابلیت عبور از سد خونی مغزی را دارد و بنابراین بر عملکرد شناختی و مغز موثر می‌باشد (۲۸). کامپفرول یکی دیگر از فلاونوئیدهای آگلیکون به شکل گلیکوزید است. حفاظت از عملکرد صحیح سیستم قلبی-عروقی و سیستم عصبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضددیابتی، ضد میکروبی و ضدسرطانی از فعالیت‌های ترکیب موثره کامپفرول است (۲۹). کامپفرول یک فیتواستروژن متعلق به فلاونوئیدها است، که بیشتر در میوه‌ها و گیاهان یافت می‌شود. Kaempferol فعالیت‌های بالقوه ضدباکتری، ضد اکسیداتیو، ضدالتهابی و ضدتوموری را نشان می‌دهد (۳۰). کامپفرول با فعال کردن MEK-MAPK باعث مهار رشد و آپوپتوز در سلول‌های سرطان ریه می‌شود و از طریق مهار مسیرهای AKT/PI3K و ERK و فعال کردن مسیر آپوپتوز میتوکندری، کشتن سلول‌های سرطانی ریه را با تشعشع در شرایط *in vivo* و *in vitro* افزایش می‌دهد (۳۱). کامپفرول به‌عنوان یک عامل ضدسرطان با برقراری مجدد ارتباط بین سلولی شکاف از طریق افزایش بیان و فسفوریلاسیون پروتئین کانکسین ۴۳ در سلول‌های سرطان روده بزرگ و حساس کردن سلول‌های سرطانی کولون به آپوپتوز ناشی از فاکتور نکروز تومور عمل می‌کند.

(EPO) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF $\alpha$ ) بوده‌اند. نشان داده شده است VEGF $\alpha$  و HIF1 $\alpha$  سبب نوروزن در مدل‌های حیوانی می‌شود. در واقع، سیگنال‌دهی VEGF $\alpha$  نقش اساسی در نوروزن ایفا می‌کند (۱۵).

مطالعات نشان داده است که، CREB1 و ARC در تنظیم نوروزن جنینی و بالغ نقش دارد (۱۶، ۱۷). از سویی، مشخص شده است که ژن ARC جهت ذخیره‌سازی اطلاعات طولانی‌مدت در مغز پستانداران ضروری است. همچنین، در شکل‌پذیری سیناپسی و اختلالات رشد عصبی نقش کلیدی دارد (۱۶). CREB1 و ARC می‌توانند شکل‌پذیری سیناپسی را از طریق گیرنده‌های گلوتامات نوع<sup>۱</sup> AMPA تنظیم کند. بیان ژن CREB1 و ARC در مغز بسیار پویا و فعال است. رونویسی CREB1 و ARC به شدت با رمزگذاری اطلاعات در مدارهای عصبی در داخل بدن همراه است (۱۶، ۱۸). رویکردهای مختلفی جهت کاهش عوارض شیمی درمانی در بیماران مبتلا به سرطان ارائه می‌شود. تحقیقات متعدد نشان داده است که فعالیت بدنی منظم می‌تواند زنده ماندن افراد مبتلا را از طریق کاهش عوارض جانبی شیمی درمانی، افزایش دهند (۱۹). برخی از مطالعات مشاهده‌ای آینده‌نگر نشان دادند که فعالیت بدنی پس از تشخیص سرطان ممکن است مرگ و میر ناشی از سرطان را به ویژه در سرطان پستان کاهش دهد (۲۰). فعالیت بدنی مخصوصاً به‌صورت هوازی می‌تواند باعث افزایش شکل‌پذیری سیناپسی و القای نوروزن شود و تأثیر مستقیم و مثبتی بر عملکرد مغز دارد (۲۱).

مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهند، بین فعالیت ورزشی و سرطان پستان رابطه نزدیکی وجود دارد. اگرچه کمبود مطالعات تجربی کنترل شده، که رابطه موجود و سازوکارهای درگیر را آزمایش کرده باشند، اساس وجود این رابطه را تضعیف می‌کند (۲۲). از طرف دیگر استفاده از مدل‌های حیوانی برای فهم بهتر سازوکارهای مرتبط با فعالیت ورزشی و سرطان لازم است. مورفی و همکارانش نیز کاهش حجم تومور را به دنبال تمرینات هوازی، در موش‌های سرطانی مشاهده کردند و آن را به افت عوامل التهابی نسبت دادند (۲۳). تمرین هوازی می‌تواند با تحریک سیستم آنتی‌اکسیدان منجر به کاهش اکسیداتیو

<sup>۱</sup> AMPA-type glutamate receptors

استقامتی (گروه تمرین و پاکلیتاکسل) ( $n=6$ )، گروه موش‌های سرطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاکسل، تمرین استقامتی و گاوژ مکمل ترکیبات زیست فعال کامپفرول و گالیک اسید (گروه تمرین و مکمل و پاکلیتاکسل) ( $n=6$ ) تقسیم شدند.

#### • دستور العمل تجزیه و تحلیل سیستم بیولوژی

در این مطالعه به منظور تعیین ژن‌های کلیدی در محور سرطان پستان و اختلالات شناختی به مرور پایگاه داده DisGeNet و STRING پرداختیم. لیست ژن‌های مربوط به شناخت با شناسه C0338656 و لیست ژن‌های مرتبط با سرطان پستان با شناسه C0006142 دریافت شد. ژن‌های مشترک بین این دو لیست ژنی به عنوان ژن‌های کلیدی مشترک دخیل در محور سرطان پستان و اختلالات شناختی توسط ابزار بیوانفورماتیکی VENNY مشخص گردید. شبکه تعاملات ژن‌های مشترک بر اساس داده کاوی و غنی‌سازی داده‌ها در پایگاه داده STRING رسم و براساس پارامترهای شبکه در نرم‌افزار CytoScape آنالیز گردید. از میان ۱۰۴۹ ژن مشترک در محور سرطان پستان و اختلالات شناختی، تغییرات بیان سه ژن ARC، HIF1 $\alpha$ ، VEGF $\alpha$  و CREB1 به‌عنوان مارکرهای اختلالات شناختی مرتبط با سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت. غنی‌سازی داده‌ها Enrich-R مسیره‌های سیگنالینگ مولکولی و سلولی مرتبط با ژن‌های مشترک را مشخص کرد.

#### • روش القا تومور پستان

قبل از شروع مداخلات، ابتدا موش‌ها سرطانی شده و داروی شیمی درمانی دریافت کردند. جهت القای سرطان پستان از رده سلولی 4T1 استفاده شد. سلول‌های 4T1 از انستیتو پاستور تهران تهیه و به منظور دستیابی به میزان موردنیاز از سلول در محیط آزمایشگاه کشت سلول، کشت داده شدند. بعد از شمارش سلولی و اطمینان از رسیدن سلول‌ها به تعداد مورد نیاز، سوسپانسیون سلولی با تراکم  $10^6$  سلول از رده سلولی 4T1 در هر ۱ mL از بافر نمک فسفات (PBS) تهیه گردید (۳۳). سپس به هر موش BALB/c تعداد  $3.5 \times 10^4$  سلول از رده سلولی 4T1 در هر ۱۰۰  $\mu$ L از PBS به صورت زیر جلدی و به پد چربی پستانی تزریق شد. لازم به ذکر است که اندازه تومورها

گرچه نقش ضدسرطانی کامپفرول در سرطان پستان گزارش شده است، اثر کامپفرول بر TNBC نامشخص است. شوشان لی و همکاران نشان داد که دوز کم کامپفرول (۲۰ میکرومول در لیتر) اثر مهارتی قوی بر مهاجرت و تهاجم سلول‌های TNBC دارد. دوز کم کامپفرول باعث کاهش فعالیت RhoA و Rac1 سلول‌های TNBC شد (۳۲).

هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرینات استقامتی همراه با مصرف ترکیب گالیک اسید و کامپفرول بر نوروزنر مغز ناشی از عوارض جانبی مصرف داروی پاکلیتاکسل بر اساس سنجش تغییرات بیان ژن‌های HIF1 $\alpha$ ، VEGF $\alpha$ ، CRAB1، ARC و آنالیز داده‌های بیوانفورماتیکی در بافت مغز در موش‌های مبتلا به سرطان پستان به عنوان مارکرهای نوروزنر می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع مطالعات تجربی است. که در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان انجام شد. کلیه پروتکل‌های و مداخلات حیوانات آزمایشگاهی در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (IR.IAU.KHUISF.REC.1401.104) مورد بررسی و تأیید شده است. در این مطالعه ۳۶ سر موش ماده از سویه BALB/c) با سن ۷ هفته وزن  $18 \pm 2$  گرم از موسسه زیست فناوری رویان اصفهان خریداری شد. موش‌ها در خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) در شرایط استاندارد رطوبت  $55 \pm 5$ ، و دمای  $22 \pm 4$  درجه سانتی‌گراد با رعایت چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. موش‌ها پس از یک هفته سازگاری بطور تصادفی به شش گروه شامل: گروه سالم بدون مداخله (گروه کنترل) ( $n=6$ )، گروه مبتلا به سرطان پستان با تزریق  $3.5 \times 10^4$  سلول از رده سلولی 4T1 به صورت زیرجلدی و به پد چربی پستانی (گروه کنترل مثبت) ( $n=6$ )، گروه موش‌های سرطانی که داروی پاکلیتاکسل (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را جهت شیمی درمانی دریافت کرده‌اند (گروه پاکلیتاکسل) ( $n=6$ )، گروه موش‌های سرطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاکسل و گاوژ مکمل ترکیبات زیست فعال کامپفرول و گالیک اسید (گروه مکمل و پاکلیتاکسل) ( $n=6$ )، گروه موش‌های سرطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاکسل و تمرین

### • مصرف گالیک اسید و کامپفرول

۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش از گالیک اسید و کامپفرول (شرکت سیگما) در ۵% DMSO حل شده و به مدت ۸ هفته به صورت گاوژ دهانی به موش‌ها خوراندند شد (۳۷).

### • بررسی بیان ژن‌ها با روش Real time PCR

استخراج RNA از بافت هیپوکامپ مغز با روش تریزول براساس پروتوکول شرکت سازنده یکتا تجهیز آزما انجام شد. میزان خالص بودن و کیفیت RNA با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری نانو دراپ در طول موج‌های ۲۸۰/۲۶۰ انجام شد. سنتز cDNA مطابق پروتکل کیت BIOFACT انجام گرفت. با استفاده از تکنیک Real-Time qPCR توسط دستگاه Corbett rotor gene 6000 میزان بیان ژن‌های موردنظر ارزیابی شد. توالی پرایمرها به کمک نرم‌افزارهای Oligo 7 و Beacon 7 designer طراحی شد (جدول ۱). ژن GAPDH به عنوان ژن خانه گردان در این پژوهش استفاده شد. آنالیز بیان ژن بیان ژن‌ها با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه و ارزیابی شد.

به‌وسیله حجم تومور توسط کالیپر دیجیتال مورد محاسبه قرار گرفت (۳۴). درنهایت، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و تیمار، موش‌ها با داروهای شیمیایی کتامین و زایلازین با نسبت ۱۰ میلی‌گرم به ۱ میلی‌گرم بیهوش شدند و بافت هیپوکامپ مغز برای آزمایش‌های بیشتر جدا شد و با حفظ زنجیره دمایی سرد به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان منتقل و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد.

### • دستورالعمل شیمی درمانی

۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش پاکلیتاکسل همراه با دی متیل سولفوکسید (DMSO) به مدت ۷ روز متوالی روزی یکبار به صورت درون صفاقی تزریق شد. تیمار با داروی پاکلیتاکسل پس از گذشت یک هفته از اجرای دستورالعمل القای سرطان اجرا گردید (۳۵).

### • دستورالعمل تمرین استقامتی

یک هفته پس از سازگاری با زمان ۱۰-۱۵ دقیقه و سرعت ۸-۱۲ متر در دقیقه انجام شد. هشت هفته تمرین استقامتی با شیب ۰ درجه، با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه و برای ۵ روز در هفته، تمرینات با شدت متوسط انجام شد (۳۶).

جدول ۱: توالی پرایمرها

ژن‌ها	پرایمر رفت (5'-3')	پرایمر برگشت (5'-3')	دمای اتصال
VEGF $\alpha$	CTGCTGTAACGATGAAGCCCTG	GCTGTAGGAAGCTCATCTCTCC	۶۰
CREB	CACAGACCACTGATGGACAGCA	AGGACGCCATAACAACCTCCAGG	۶۲
BDNF	GGCTGACACTTTTGAGCACGTC	CTCCAAAGGCACTTGACTGCTG	۶۰
ARC	GCTGGAAGAAGTCCATCAAGGC	ACCTCTCCAGACGGTAGAAGAC	۶۰
GAPDH	CATCACTGCCACCCAGAAGACTG	ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAG	۶۰

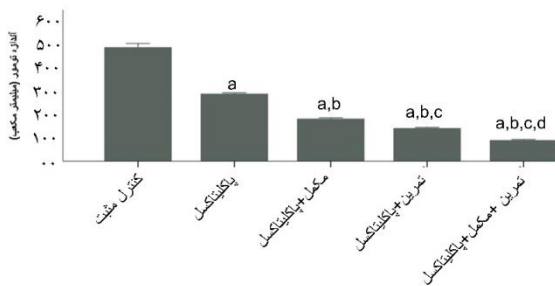
تفاوت در  $P.value < 0.05$  نشان‌دهنده معنی‌داری در تمام تحلیل‌ها بود.

### یافته‌ها

• ژن‌های دخیل در محور سرطان پستان - نوروزنز در بررسی و آنالیزهای بیوانفورماتیکی، لیست ژن‌های مرتبط با سرطان پستان شامل ۶۹۴۱ ژن و لیست ژن‌های مرتبط با شناخت شامل ۱۶۳۰ ژن می‌باشد. اشتراکات ژنی

### • تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۹ (Graph Pad Software Inc., La Jolla, CA) انجام شد. همچنین در این مطالعه از آزمون Shapiro-Wilk برای نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. تمامی داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون Tukey's post hoc محاسبه شد. نتایج به عنوان میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد (SD) نشان داده شد، و



شکل ۱: تأثیر مصرف مکمل کامپفرول، گالیک اسید و تمرین

استقامتی بر اندازه تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نمایش داده شده است. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. a نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل مثبت می باشد ( $p < 0.05$ ). b نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی‌درمانی شده (گروه پاکلیتاکسل) می باشد ( $p < 0.05$ ). c نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی‌درمانی + مکمل (گروه مکمل + پاکلیتاکسل) می باشد ( $p < 0.05$ ). d نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی‌درمانی + تمرین استقامتی (گروه تمرین + پاکلیتاکسل) می باشد ( $p < 0.05$ ).

(گروه کنترل مثبت) بطور معنی‌داری کاهش یافته است. از سویی، میزان بیان ژن‌های VEGF $\alpha$ /ARC/CREB در گروه موش‌های سرطانی که با داروی پاکلیتاکسل جهت شیمی‌درمانی دریافت کرده‌اند (گروه پاکلیتاکسل) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه سرطان پستان (گروه کنترل مثبت) کاهش یافته است ( $p < 0.05$ ، شکل ۲ الف-ج). در این تحقیق مشخص شده که گروه موش‌های القا شده به سرطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاکسل و مکمل ترکیبات زیست فعال کامپفرول و گاوژ گالیک اسید (مکمل + پاکلیتاکسل) مصرف کرده‌اند و گروه موش‌های القا شده به سرطانی تحت تیمار با داروی پاکلیتاکسل و تمرین استقامتی (گروه تمرین + پاکلیتاکسل) انجام داده‌اند بطور معنی‌داری نسبت به موش‌های القا شده به سرطان پستان افزایش یافته است ( $p < 0.05$ ، شکل ۲ الف-ج). به علاوه، انجام همزمان تمرین استقامتی و مصرف مکمل ترکیبات زیست فعال (تمرین + مکمل + پاکلیتاکسل) سبب افزایش میزان بیان ژن‌های VEGF $\alpha$ /ARC/CREB نسبت به سایر گروه‌ها شده است ( $p < 0.05$ ، شکل ۲ الف-ج).

بین این دو لیست ژنی شامل ۱۰۴۹ ژن است که با استفاده از ابزار بیوانفورماتیکی VENNY بدست آمد. شبکه تعاملات ژنتیکی ۱۰۴۹ ژن مشترک با سطح اطمینان متوسط ( $score > 0.4$ ) براساس مستندات در پایگاه داده STRING طراحی شد و آنالیز پارامترهای شبکه (درجه: ۳۰، مرکزیت بینابینی: ۰/۰۰۵) در نرم‌افزار CytoScape ۵۸ ژن را در شبکه تعاملات ژنتیکی در محور سرطان پستان-شناخت به‌عنوان ژن‌های اصلی درگیر در این مسیر مشخص کرد. در این شبکه تعاملات ژنتیکی درجه تأثیر ژن‌ها در شبکه تجسم شده بر اساس پارامتر درجه<sup>۱</sup> نشان داده شده است. هرچه درجه ژن در شبکه بالاتر باشد، اندازه گره<sup>۲</sup> بزرگ‌تر می‌باشد. از طرفی، میزان ارتباط ژن‌ها در این شبکه ژنتیکی براساس الگوریتم‌های بیوانفورماتیکی و غنی‌سازی داده‌ها به صورت خطوط نمایش داده شده است. در این بین، ژن‌های ARC، VEGF $\alpha$ ، HIF1 $\alpha$  و CREB1 به‌عنوان مارکرهای نوروزن و شناخت مشخص شد. غنی‌سازی داده‌های بیوانفورماتیکی این ژن‌ها را به عنوان ژن‌های اصلی دخیل در نئوپلاسم بافت پستان، سرطان پستان ارثی، بیماری‌زایی آلزایمر و پارکینسون شناسایی کرد.

#### • تأثیر تمرین استقامتی و مصرف ترکیبات زیست

##### فعال گالیک اسید و کامپفرول بر اندازه تومور

اندازه تومور در اثر مصرف ترکیبات زیست فعال ترکیبات زیست فعال گالیک اسید و کامپفرول و انجام تمرین استقامتی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش یافته است ( $p < 0.05$ ، شکل ۱). اثر همزمان تمرین استقامتی و مصرف ترکیبات زیست فعال ترکیبات زیست فعال گالیک اسید و کامپفرول به‌طور معنی‌داری اندازه تومورها را نسبت به سایر گروه‌ها کاهش داده است ( $p < 0.05$ ، شکل ۱).

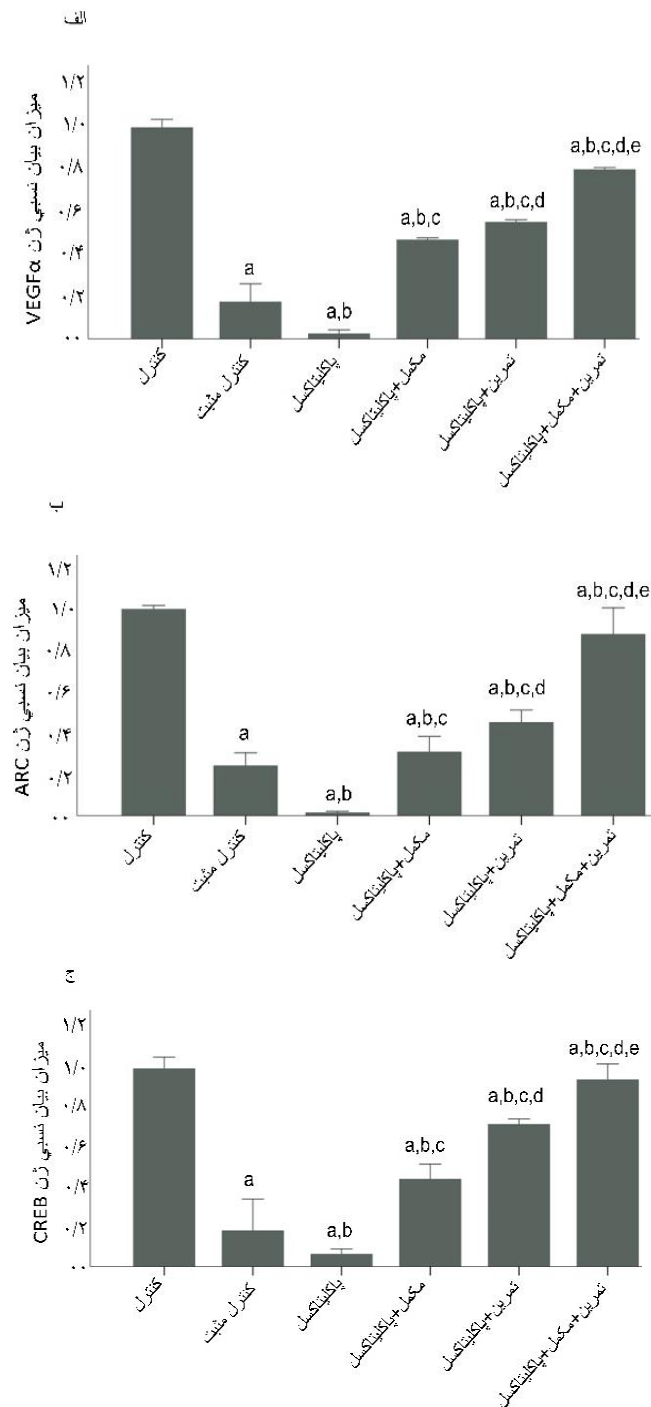
#### • تأثیر تمرین استقامتی و مصرف مکمل‌های گالیک

##### اسید و کامپفرول بر بیان ژن‌های VEGF $\alpha$ /ARC/CREB

در این مطالعه مشخص شد که بیان VEGF $\alpha$ /ARC/CREB در گروه مبتلا به سرطان پستان

<sup>1</sup> Degree

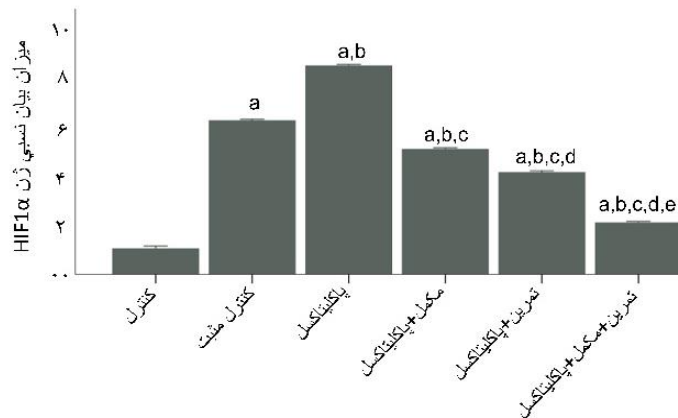
<sup>2</sup> Node



شکل ۲: تأثیر مصرف مکمل کامپفروول، گالیک اسید و تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های VEGFα/ARC/CREB در بافت هیپوکامپ مغز موش‌های مبتلا به سرطان پستان. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نمایش داده شده است. الف) تأثیر مصرف مکمل کامپفروول، گالیک اسید و تمرین استقامتی بر تغییرات بیان ژن VEGFα. ب) تأثیر مصرف مکمل کامپفروول، گالیک اسید و تمرین استقامتی بر تغییرات بیان ژن ARC. ج) تأثیر مصرف مکمل کامپفروول، گالیک اسید و تمرین استقامتی بر تغییرات بیان ژن CREB. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نمایش داده شده است. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. ژن GAPDH به عنوان ژن خانه گردان در این پژوهش استفاده شد. آنالیز بیان ژن‌ها با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه و ارزیابی گردید. a نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل می‌باشد ( $p < 0.05$ ). b نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی شده (گروه پاکلیتاکسل) می‌باشد ( $p < 0.05$ ). c نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی + مکمل ترکیبات زیست فعال (گروه مکمل + پاکلیتاکسل) می‌باشد ( $p < 0.05$ ). d نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی + تمرین استقامتی (گروه تمرین + پاکلیتاکسل) می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

در اثر مصرف ترکیبات زیست فعال گالیک اسید و کامپفرول و انجام تمرینات استقامتی به طور معنی داری نسبت به موش‌های القا شده به سرطان پستان و گروه پاکلیتاکسل کاهش یافته است ( $p < 0.05$ ، شکل ۳). از سویی، در این تحقیق مشخص شده که مصرف همزمان مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول همراه با انجام تمرینات استقامتی سبب کاهش معنی دار بیان ژن HIF1 $\alpha$  نسبت به سایر گروه‌ها شده است ( $p < 0.05$ ، شکل ۳).

**تأثیر تمرین استقامتی و مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول بر میزان بیان ژن HIF1 $\alpha$**   
مشخص شد که بیان ژن HIF1 $\alpha$  در گروه مبتلا به سرطان پستان (گروه کنترل مثبت) نسبت به گروه سالم بدون هیچ مداخله‌ای (گروه کنترل) به طور معنی داری افزایش یافته است ( $p < 0.05$ ، شکل ۳). از سویی، در گروه موش‌های سرطانی که داروی پاکلیتاکسل جهت شیمی درمانی دریافت کرده‌اند (گروه پاکلیتاکسل) میزان بیان ژن HIF1 $\alpha$  به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش یافته است ( $p < 0.05$ ، شکل ۳). بیان ژن HIF1 $\alpha$



شکل ۳: تأثیر مصرف مکمل کامپفرول، گالیک اسید و تمرین استقامتی بر بیان ژن HIF1 $\alpha$  در بافت هیپوکامپ مغز موش‌های مبتلا به سرطان پستان

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نمایش داده شده است. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. ژن GAPDH به عنوان ژن خانه گردان در این پژوهش استفاده شد. آنالیز بیان ژن‌ها با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه و ارزیابی گردید. a نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل مثبت می باشد ( $p < 0.05$ ). b نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل مثبت می باشد ( $p < 0.05$ ). c نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی شده (گروه پاکلیتاکسل) می باشد ( $p < 0.05$ ). d نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی + مکمل ترکیبات زیست فعال (گروه مکمل + پاکلیتاکسل) می باشد ( $p < 0.05$ ). e نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه سرطان شیمی درمانی + تمرین استقامتی (گروه تمرین + پاکلیتاکسل) می باشد ( $p < 0.05$ ).

هیپوکامپ، با بیان بالای RIP3 در مقایسه با گروه کنترل شد (۳۸). افزایش بیان iNOS و عوامل التهابی مانند TNF- $\alpha$  و IL- $\beta$  در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد که قطبیت M1 میکروگلیا در فرآیند شناختی نقش دارد (۳۸). نشانگرهای زیستی کاهش شناخت ناشی از شیمی درمانی سرطان و/یا عوامل خطر مانند وضعیت التهابی یا عوامل ژنتیکی مستعد کننده اخیراً مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه میزان تأثیر تمرین ورزشی استقامتی مورد ارزیابی قرار گرفته است. در نتیجه، مصرف پاکلیتاکسل می‌تواند دارای عوارض جانبی بر روی نوروپاتی و عملکرد سلول‌های عصبی داشته باشد.

## بحث

در این مطالعه مشخص شده که شیمی درمانی با داروی پاکلیتاکسل سبب کاهش معنی دار بیان VEGF $\alpha$ /ARC/CREB و افزایش معنی دار ژن HIF1 $\alpha$  نسبت به گروه کنترل مثبت شده است. مطالعات نشان داده‌اند داروی شیمی درمانی پاکلیتاکسل (10 mg/kg) باعث اختلال شناختی قابل توجهی، همراه با تغییراتی در شکل‌پذیری سیناپسی، از جمله کاهش تراکم BDNF، PSD95 و خارهای دندریتیک<sup>۱</sup> می‌گردد. تانگ و همکاران نشان دادند پاکلیتاکسل باعث نکروپتوز در نوروپاتی

<sup>1</sup> Dendritic spines

دارد. در این مطالعه مشخص گردید که بیان ژن HIF1 $\alpha$  در گروه موش‌های سرطانی که با داروی پاکلیتاکسل جهت شیمی درمانی دریافت کرده‌اند (گروه پاکلیتاکسل) میزان بیان ژن HIF1 $\alpha$  به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش یافته است. از سویی، بیان ژن HIF1 $\alpha$  در اثر مصرف ترکیبات زیست فعال گالیک اسید و کامپفرول و انجام تمرینات استقامتی به‌طور معنی‌داری نسبت به موش‌های القا شده به سرطان پستان و گروه پاکلیتاکسل کاهش یافته است. در این تحقیق مشخص شده که مصرف همزمان مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول همراه با انجام تمرینات استقامتی سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن HIF1 $\alpha$  نسبت به سایر گروه‌ها شده است.

میزان بیان ژن‌های VEGF $\alpha$ /ARC/CREB در اثر مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول در موش‌های شیمی درمانی شده بوسیله پاکلیتاکسل در موش‌های مبتلا به سرطان پستان به‌طور معنی‌داری افزایش و میزان بیان ژن HIF1 $\alpha$  کاهش یافته است. در نتیجه، شیمی‌درمانی توسط داروی پاکلیتاکسل سبب کاهش نورون‌زایی می‌گردد و می‌توان با کمک انجام تمرینات استقامتی و مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول میزان اختلال در نورون‌زایی توسط مصرف داروی پاکلیتاکسل کاهش یابد. کامپفرول از طریق کاهش مسیره‌های PI3K/AKT در سلول‌های سرطان دهانه رحم انسان، آپوپتوز سلولی و پیری را القا می‌کند (۴۴). در سرطان پستان، کامپفرول از طریق توقف چرخه سلولی آپوپتوز را القا می‌کند و رشد سلولی ناشی از استروژن و تریکلوزان را سرکوب می‌کند (۴۵). کامپفرول از طریق مسدود کردن آبشار ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP)-۹، مهاجم سلول‌های سرطان پستان را مهار می‌کند (۴۶). کامپفرول همچنین می‌تواند انتقال اپیتلیال-مزانیشیمی (EMT) ناشی از تریکلوزان و رفتارهای مرتبط با متاستاتیک را در سلول‌های سرطان پستان MCF7 سرکوب کند. اگرچه نقش ضدسرطانی کامپفرول در انواع مختلف تومورها با موفقیت به اثبات رسیده است، اثر کامپفرول بر TNBC هنوز به خوبی تعریف نشده است. شوشان لی و همکاران برای اولین بار نشان داد که دوز کم کامپفرول با کاهش فعالیت Rho، مهاجرت سلول‌های TNBC را سرکوب می‌کند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که کامپفرول یک

مشخص شده است که میزان بیان ژن‌های VEGF $\alpha$ /ARC/CREB در اثر انجام تمرینات استقامتی افزایش و میزان بیان ژن HIF1 $\alpha$  کاهش یافته است. چند مطالعه نشان داده‌اند که برنامه‌های ورزشی می‌تواند اختلالات شناختی را بهبود بخشد (۳۹) اما اکثر آن‌ها براساس خودگزارشی بیماران بوده و عملکرد شناختی عینی را ارزیابی نکرده‌اند (۴۰). یک مطالعه اخیر، شناخت را در بازماندگان سرطان پستان غیرفعال که به‌طور تصادفی در یک برنامه ورزشی ۱۲ هفته‌ای در مقایسه با گروه کنترل انتخاب شده بودند، ارزیابی کرده است. گروه تمرین در افرادی که در ۲ سال گذشته تشخیص داده شده بودند، بهبودی در سرعت پردازش و کاهش علائم شناختی داشتند (۳۹). در مدل‌های موشی، نشان داده شده است که تمرینات ورزشی، میزان نورون‌زنی در ناحیه هیپوکامپ مغز موش‌های مبتلا به سرطان پستان شیمی‌درمانی شده را افزایش می‌دهد (۴۱). بر اساس نتایج بدست آمد، انجام تمرینات هوازی می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در مسیر نورون‌زایی را افزایش دهد.

رویکردهای مهار سیگنال‌دهی HIF1 $\alpha$  در درجه اول بر کاهش سطح پروتئین HIF1 $\alpha$ ، با القای تخریب یا مهار رونویسی آن، مهار رونویسی با واسطه HIF1 $\alpha$ ، یا ایجاد اختلال در تشکیل مجموعه فاکتور رونویسی HIF1 $\alpha$  متمرکز شده است (۱۴). تا به امروز، چندین عامل پیش بالینی و بالینی شناسایی شده‌اند که به‌طور موثری از طریق مکانیسم‌های مختلف فعالیت HIF1 $\alpha$  را مهار می‌کنند، که احتمالاً بخشی از اثر ضدتوموری آنها را تشکیل می‌دهند (۱۴). فعال شدن مسیر HIF1 $\alpha$  می‌تواند سبب فعال شدن BDNF و VEGF $\alpha$  در نتیجه سبب نورون‌زنی در مغز می‌شود (۱۵). لی و همکاران نشان دادند که مسیر HIF1 $\alpha$  یک هدف بالقوه جهت بهبود نورون‌زنی می‌باشد. فعال‌سازی مسیر HIF1 $\alpha$  منجر به بیان پایدار ژن هدف EPO و فاکتور نوروتروفیک BDNF می‌شود (۴۲). علاوه بر این، گزارش شده است که EPO، سبب تحریک HIF1 $\alpha$  و باعث بیان ژن‌های نوروتروفیک مانند BDNF می‌شود (۴۲). دیاما و همکاران دریافتند که اثرات نورون‌زنی و نوروتروفیک BDNF نیاز به سیگنالینگ VEGF $\alpha$  دارد و یک تعامل متقابل بین این دو مولکول وجود دارد (۴۳). این یافته‌ها نشان می‌دهد که فعال‌سازی مسیر HIF1 $\alpha$  و افزایش BDNF نقش مهمی در میانجی‌گری اثرات نورون‌زنی

استقامتی میزان بیان ژن HIF1 $\alpha$  به طور معنی داری کاهش یافته است. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم اندازه‌گیری میزان تغییرات پروتئین VEGF $\alpha$ /ARC/CREB و HIF1 $\alpha$  اشاره نمود. همچنین، در این مطالعه انجام توموگرافی امکان‌پذیر نبوده است و از محدودیت‌های مطالعه محسوب می‌شود. از سویی، عدم سنجش میزان نوروژایی براساس مطالعات پت اسکن از دیگر محدودیت‌های مطالعه محسوب می‌گردد. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های دیگر مصرف گالیک اسید و کامپفرول با تمرینات هوازی با دوزهای متفاوت بررسی شود. از سویی، نیاز به بررسی میزان تغییرات فیزیولوژیکی حاصل از دیگر پروتکل‌های ورزشی با شدت و مدت متفاوت مناسب در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود.

### تعارض منافع

در ارتباط با یافته‌های پژوهش یا مطالب ذکر شده در مقاله، نویسندگان مقاله دارای تعارض منافع نمی‌باشند.

### References

1. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. CA: a cancer journal for clinicians. 2023;73(1):17-48.
2. Hajibabae F, Abedpoor N, Assareh N, Tabatabaiefar MA, Shariati L, Zarrabi A. The importance of SNPs at miRNA binding sites as biomarkers of gastric and colorectal cancers: a systematic review. Journal of Personalized Medicine. 2022;12(3):456.
3. Jia M, Zhang X, Wei L, Gao J. Measurement, outcomes and interventions of cognitive function after breast cancer treatment: A narrative review. Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology. 2021;17(4):321-9.
4. Joly F, Castel H, Tron L, Lange M, Vardy J. Potential effect of immunotherapy agents on cognitive function in cancer patients. JNCI: Journal of the National Cancer Institute. 2020;112(2):123-7.
5. Lange M, Joly F, Vardy J, Ahles T, Dubois M, Tron L, et al. Cancer-related cognitive impairment: an update on state of the art, detection, and management strategies in

داروی شیمی‌درمانی بالقوه برای تأخیر در متاستاز TNBC است (۳۲). سونگ و همکاران همچنین دریافتند که تزریق داخل صفاقی روزانه ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کامپفرول به صورت روزانه به مدت ۳ هفته، می‌تواند از رشد تومور زنگرافت معده جلوگیری کند (۴۷). گالیک اسید یک ترکیب پلی‌فنول با فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف مانند آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضدتومور، ضدویروسی و ضد باکتری است (۲۷). در همان زمان، تعداد فزاینده‌ای از مطالعات گزارش کردند که مهار تکثیر سلول‌های تومور و القای آپوپتوز، کلید داروهای ضدتومور فعال هستند، و رادیوتراپی و شیمی‌درمانی ارتباط نزدیکی با القای آپوپتوز دارند (۴۸). براساس مطالعات انجام شده و نتایج این تحقیق، مصرف ترکیبات زیست فعال مانند مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول می‌تواند علاوه بر خاصیت ضداکسیداتیوی و ضدالتهابی، بر روی نوروژایی و عملکرد سلول‌های عصبی تأثیر مثبت داشته باشد.

به طور کلی، شیمی‌درمانی اگرچه باعث کاهش سایز تومور و محدودیت گسترش سرطان می‌شود، اما با این وجود دارای عوارض جانبی است. مشخص شده است که مصرف پاکلیتاکسل اثرات منفی بر عملکرد سلول‌های عصبی و کاهش نوروژایی در بافت مغز می‌گردد. در نتیجه استفاده از ترکیبات زیست فعال مانند مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول می‌تواند اثرات منفی مصرف داروی پاکلیتاکسل را کاهش دهد. از سویی، در این مطالعه مشخص شده که انجام تمرینات هوازی می‌تواند میزان نوروژایی در بافت مغز موش‌های مبتلا به سرطان پستان را افزایش دهد. شایان ذکر است، بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه تأثیر همزمان انجام تمرینات هوازی همراه با مانند مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول به طور معنی داری سبب افزایش میزان نوروژایی در بافت مغز و اندازه تومورها شده است.

### نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشخص شد مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول و انجام تمرینات استقامتی در موش‌های شیمی‌درمانی شده بوسیله پاکلیتاکسل در موش‌های مبتلا به سرطان پستان سبب افزایش میزان بیان ژن‌های VEGF $\alpha$ /ARC/CREB شده است. از سویی، در اثر مصرف مکمل‌های گالیک اسید و کامپفرول و انجام تمرین

- Patients With Recurrent or Refractory Solid Tumors. *Clinical Pharmacology in Drug Development*. 2021;10(2):115-30.
14. Assidicky R, Tokat UM, Tarman IO, Saatci O, Ersan PG, Raza U, et al. Targeting HIF1-alpha/miR-326/ITGA5 axis potentiates chemotherapy response in triple-negative breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2022;193(2):331-48.
  15. Li G, Zhao M, Cheng X, Zhao T, Feng Z, Zhao Y, et al. FG-4592 improves depressive-like behaviors through HIF-1-mediated neurogenesis and synapse plasticity in rats. *Neurotherapeutics*. 2020;17:664-75.
  16. Leung H-W, Foo G, VanDongen A. Arc regulates transcription of genes for plasticity, excitability and Alzheimer's disease. *Biomedicines*. 2022;10(8):1946.
  17. Pastuzyn ED, Day CE, Kearns RB, Kyrke-Smith M, Taibi AV, McCormick J, et al. The neuronal gene arc encodes a repurposed retrotransposon gag protein that mediates intercellular RNA transfer. *Cell*. 2018;172(1):275-88. e18.
  18. Ortega-Martínez S. A new perspective on the role of the CREB family of transcription factors in memory consolidation via adult hippocampal neurogenesis. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2015;8:46.
  19. Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, Kothadia SM, Keir ST, Freedland SJ, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. *Journal of applied physiology*. 2010;108(2):343-8.
  20. Rock CL, Thomson C, Gansler T, Gapstur SM, McCullough ML, Patel AV, et al. American Cancer Society guideline for diet and physical activity for cancer prevention. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2020;70(4):245-71.
  21. Abedpoor N, Taghian F, Hajibabaie F. Cross brain-gut analysis highlighted hub genes and LncRNA networks differentially modified during leucine consumption and endurance exercise in mice with cancer survivors. *Annals of Oncology*. 2019;30(12):1925-40.
  6. Winocur G, Johnston I, Castel H. Chemotherapy and cognition: International cognition and cancer task force recommendations for harmonising preclinical research. *Cancer treatment reviews*. 2018;69:72-83.
  7. Pakravan G, Peymani M, Abedpoor N, Safaiejad Z, Yadegari M, Derakhshan M, et al. Antiapoptotic and anti-inflammatory effects of Ppar $\gamma$  agonist, pioglitazone, reversed Dox-induced cardiotoxicity through mediating of miR-130a downregulation in C57BL/6 mice. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2022;36(6):e23041.
  8. Donovan F, Sands K, Judith N, Marianne M, Green C. Phipps medical surgical nursing health and illness perspective 8 th ed. St Louis: Lippincott Williams & Wilkins. 2007.
  9. Baghbehsheti S, Baniasadi S. Comparing adverse effects of docetaxel-doxorubicin and paclitaxel-doxorubicin regimens in breast cancer patients. *Koomesh*. 2019;21(3):449-55.
  10. Pavlidis N. Cancer and pregnancy: what should we know about the management with systemic treatment of pregnant women with cancer? *European Journal of Cancer*. 2011;47:S348-S52.
  11. Xiong C, Chua KC, Stage TB, Priotti J, Kim J, Altman-Merino A, et al. Human induced pluripotent stem cell derived sensory neurons are sensitive to the neurotoxic effects of paclitaxel. *Clinical and translational science*. 2021;14(2):568-81.
  12. Naaz F, Haider MR, Shafi S, Yar MS. Anti-tubulin agents of natural origin: Targeting taxol, vinca, and colchicine binding domains. *European journal of medicinal chemistry*. 2019;171:310-31.
  13. Li Y, Kassir N, Chen N, Wang X, Palmisano M, Zhou S. Population Pharmacokinetics and Exposure-Response Analysis of nab-Paclitaxel in Pediatric

29. M Calderon-Montano J, Burgos-Morón E, Pérez-Guerrero C, López-Lázaro M. A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2011;11(4):298-344.
30. Kashafi E, Moradzadeh M, Mohamadkhani A, Erfanian S. Kaempferol increases apoptosis in human cervical cancer HeLa cells via PI3K/AKT and telomerase pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;89:573-7.
31. Kuo W-T, Tsai Y-C, Wu H-C, Ho Y-J, Chen Y-S, Yao C-H, et al. Radiosensitization of non-small cell lung cancer by kaempferol. *Oncology Reports*. 2015;34(5):2351-6.
32. Li S, Yan T, Deng R, Jiang X, Xiong H, Wang Y, et al. Low dose of kaempferol suppresses the migration and invasion of triple-negative breast cancer cells by downregulating the activities of RhoA and Rac1. *Oncotargets and therapy*. 2017;4809-19.
33. Atiya HI, Dvorkin-Gheva A, Hassell J, Patel S, Parker RL, Hartstone-Rose A, et al. Intraductal adaptation of the 4T1 mouse model of breast cancer reveals effects of the epithelial microenvironment on tumor progression and metastasis. *Anticancer research*. 2019;39(5):2277-87.
34. Rodallec A, Vaghi C, Ciccolini J, Fanciullino R, Benzekry S. Tumor growth monitoring in breast cancer xenografts: A good technique for a strong ethic. *Plos one*. 2022;17(9):e0274886.
35. Sólamo AM, Santacruz MS, Vanzulli S, Coggiola O, de Kier Joffé EB, Finkielstein L, et al. Anti-metastatic action of an N4-aryl substituted thiosemicarbazone on advanced triple negative breast cancer. *Heliyon*. 2020;6(10):e05161.
36. Vulczak A, Souza AdO, Ferrari GD, Azzolini AECS, Pereira-da-Silva G, Alberici LC. Moderate exercise modulates tumor metabolism of triple-negative breast cancer. *Cells*. 2020;9(3):628.
37. Wang T, Wu Q, Zhao T. Preventive effects of kaempferol on high-fat diet-induced depression-like behaviors. *Molecular Neurobiology*. 2022;59(7):4106-23.
22. Entezar M. Overview of the National Cancer Control Program Breast of Islamic Republic of Iran (Levels 1 and 2 prevention). Irvine Publishing Company. 2012;1:46-70.
23. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux T, McClellan J, Steiner J, Carmichael M, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine*. 2011;55(2):274-9.
24. Hajibabaie F, Abedpoor N, Taghian F, Safavi K. A Cocktail of Polyherbal Bioactive Compounds and Regular Mobility Training as Senolytic Approaches in Age-dependent Alzheimer's: the In Silico Analysis, Lifestyle Intervention in Old Age. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2023:1-14.
25. Abedpoor N, Taghian F, Hajibabaie F. Physical activity ameliorates the function of organs via adipose tissue in metabolic diseases. *Acta histochemica*. 2022;124(2):151844.
26. Hajibabaie F, Abedpoor N, Safavi K, Taghian F. Natural remedies medicine derived from flaxseed (secoisolariciresinol diglucoside, lignans, and  $\alpha$ -linolenic acid) improve network targeting efficiency of diabetic heart conditions based on computational chemistry techniques and pharmacophore modeling. *Journal of Food Biochemistry*. 2022:e14480.
27. Bai J, Zhang Y, Tang C, Hou Y, Ai X, Chen X, et al. Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2021;133:110985.
28. Farbood Y, Sarkaki A, Hashemi S, Mansouri MT, Dianat M. The effects of gallic acid on pain and memory following transient global ischemia/reperfusion in Wistar rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2013;3(4):329.

- xenograft breast cancer models. The Journal of nutritional biochemistry. 2016;28:70-82.
46. Li C, Zhao Y, Yang D, Yu Y, Guo H, Zhao Z, et al. Inhibitory effects of kaempferol on the invasion of human breast carcinoma cells by downregulating the expression and activity of matrix metalloproteinase-9. *Biochemistry and Cell Biology*. 2015;93(1):16-27.
47. Song H, Bao J, Wei Y, Chen Y, Mao X, Li J, et al. Kaempferol inhibits gastric cancer tumor growth: An in vitro and in vivo study. *Oncology reports*. 2015;33(2):868-74.
48. Jan R. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2019;9(2):205.
- obesity complications in C57BL/6 mice. *BioMed research international*. 2020;2020.
38. Tang M, Zhao S, Liu J-X, Liu X, Guo Y-X, Wang G-Y, et al. Paclitaxel induces cognitive impairment via necroptosis, decreased synaptic plasticity and M1 polarisation of microglia. *Pharmaceutical Biology*. 2022;60(1):1556-65.
39. Hartman SJ, Nelson SH, Myers E, Natarajan L, Sears DD, Palmer BW, et al. Randomized controlled trial of increasing physical activity on objectively measured and self-reported cognitive functioning among breast cancer survivors: The memory & motion study. *Cancer*. 2018;124(1):192-202.
40. Bedillion MF, Ansell EB, Thomas GA. Cancer treatment effects on cognition and depression: The moderating role of physical activity. *The Breast*. 2019;44:73-80.
41. Winocur G, Wojtowicz JM, Huang J, Tannock IF. Physical exercise prevents suppression of hippocampal neurogenesis and reduces cognitive impairment in chemotherapy-treated rats. *Psychopharmacology*. 2014;231:2311-20.
42. Kushwah N, Jain V, Deep S, Prasad D, Singh SB, Khan N. Neuroprotective role of intermittent hypobaric hypoxia in unpredictable chronic mild stress induced depression in rats. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149309.
43. Deyama S, Bang E, Wohleb ES, Li X-Y, Kato T, Gerhard DM, et al. Role of neuronal VEGF signaling in the prefrontal cortex in the rapid antidepressant effects of ketamine. *American Journal of Psychiatry*. 2019;176(5):388-400.
44. Yoshida T, Konishi M, Horinaka M, Yasuda T, Goda AE, Taniguchi H, et al. Kaempferol sensitizes colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2008;375(1):129-33.
45. Kim S-H, Hwang K-A, Choi K-C. Treatment with kaempferol suppresses breast cancer cell growth caused by estrogen and triclosan in cellular and