Journal of Sport and Exercise Physiology
2026, 19(3): 96-110

Orginal Article

Concurrent effects of aerobic exercise and gallic acid supplementation on selected inflammatory markers in prostate tissue of rats following orthotopic LNCaP tumor cell implantation

Sayeh Toutounchi Avval[1], Mohammad Ali Azarabayjani[2*], Seyed Ali Hosseini[3], Shahram Soheili[4], Rohollah Ershadi[5]

[1] Department of Exercise Physiology, Ki.C., Islamic Azad University, Kish, Iran
[2] Department of Exercise Physiology, CT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3] Department of Sport Physiology, Marv.C, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran
[4] Department of Physical Education and Sport Science, ShQ.C., Islamic Azad University, Shahr-e Qods, Iran
[5] Department of Physical Education and Sport Science, Bu.C., Islamic Azad University, Bushehr, Iran

Abstract

Background and Purpose: Systemic inflammation in prostate tissue is a critical factor in the progression of prostate cancer (PCa). This study aimed to investigate the concurrent effects of aerobic training (AT) and gallic acid (GA) supplementation on selected inflammatory markers in prostate tissue following orthotopic implantation of LNCaP tumor cells.

Materials and Methods: Thirty-five male rats (10–12 months old; 260–300 g) were randomly assigned to five groups: (1) PCa control, (2) sham (GA solvent; Sh), (3) GA, (4) AT, and (5) AT+GA. Additionally, seven healthy rats were included as a healthy control (HC) to assess baseline inflammatory marker expression. Exercise groups underwent an eight-week aerobic training program consisting of five sessions per week, with running at 15 m/min on a 15° incline for 30–60 minutes per session. GA was administered daily by gavage at a dose of 20 mg/kg. Gene expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), colony-stimulating factor-1 (CSF-1), and chemokine ligand 3 (Cxcl3) were quantified using qRT-PCR. Shapiro-Wilk tests, one-way analysis of variance, and Tukey's post hoc test were performed using SPSS version 22 software, with a significance level of 0.05.

Results: VEGF, Cxcl3, and CSF-1 expression levels were significantly higher in the PCa group compared to the HC ($P< 0.001$). All intervention groups (AT, GA, and AT+GA) showed significantly reduced expression of VEGF, Cxcl3, and CSF-1 relative to the PCa controls. Notably, the AT+GA group exhibited significantly lower VEGF, Cxcl3, and CSF-1 levels than either AT or GA alone. Comparisons between the AT and GA groups revealed lower VEGF in the GA and lower CSF-1 in the AT ($P <0.002$).

Conclusion: Although AT and GA individually modulate overlapping pathways to reduce Cxcl3, VEGF, and CSF-1, their combined application appears to exert a more pronounced effect on inflammatory signaling pathways in the orthotopic LNCaP prostate tumor model, despite engaging partly distinct molecular mechanisms.

* Corresponding Author's E-mail: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir
https://doi.org/10.48308/joeppa.2026.242315.1406
Received: 16/11/2025 Revised: 11/04/2026 Accepted: 18/04/2026

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Keywords: Aerobic exercise, Gallic acid, Inflammation, Orthotopic LNCaP implantation

How to cite this article: Toutounchi Avval S, Azarabayjani M, Hosseini S A , Soheili Sh , Ershadi R. Concurrent effects of aerobic exercise and gallic acid supplementation on selected inflammatory markers in prostate tissue of rats following orthotopic LNCaP tumor cell implantation. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(3):96-110.

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
۱۴۰۵، دوره ۱۹، شماره ۳، صفحه‌های ۹۶-۱۱۰

مقاله پژوهشی

اثرات همزمان تمرین هوازی و مکمل اسید گالیک بر برخی نشانگرهای التهابی بافت پروستات در موش‌های صحرایی پس از کاشت ارتوتوپیک سلول توموری ردهٔ LNCaP

سایه توتونچی اول[۱]، محمدعلی آذربایجانی[۲*]، سیدعلی حسینی[۳]، شهرام سهیلی[۴]، روح‌الله ارشادی[۵]

[۱] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد بین‌المللی کیش، دانشگاه آزاد اسلامی، کیش، ایران
[۲] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۳] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران
[۴] گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر قدس، ایران
[۵] گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بوشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، بوشهر، ایران

چکیده

زمینه و هدف: بروز التهاب سراسری در بافت پروستات، یکی از عوامل کلیدی در پیشرفت سرطان پروستات (PCa) است. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات همزمان تمرین هوازی (AT) و مکمل اسید گالیک (GA) بر برخی نشانگرهای التهابی بافت پروستات پس از کاشت ارتوتوپیک سلول توموری ردهٔ LNCaP انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۳۵ سر موش صحرایی نر (با سن ۱۰ تا ۱۲ ماه و وزن ۲۶۰ تا ۳۰۰ گرم) پس از کاشت ردهٔ سلولی LNCaP در بافت پروستات، به صورت تصادفی در گروه‌های: ۱- کنترل بیمار (PCa)، ۲- شم (حلال GA/(Sh)، ۳- GA، ۴- AT و ۵- AT+GA قرار گرفتند. ۷ سر موش صحرایی سالم نیز برای بررسی تأثیر کاشت ارتوتوپیک سلول توموری ردهٔ LNCaP بر متغیرهای پژوهش، در گروه کنترل سالم (HC) قرار داده شدند. گروه‌های تمرین به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته، به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه با شدت ۱۵ m/min در شیب ۱۵ درجه دویدند. گروه‌های دریافت‌کنندهٔ GA نیز دوز ۲۰mg/kg را به صورت روزانه به روش گاواژ دریافت کردند. برای اندازه‌گیری مقادیر بیان ژنی عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، عامل محرک کلونی-۱ (CSF-1) و لیگاند شیوکاین ۳ (Cxcl3) از qReal Time PCR استفاده شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های شاپیرو - ویلک، تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی در نرم‌افزار SPSS ویراست ۲۲ در سطح معناداری ۰/۰۵ انجام گرفت.

نتایج: مقادیر VEGF، Cxcl3 و CSF-1 در گروه PCa، به طور معناداری بیشتر از گروه HC بود (P≤۰/۰۰۱)؛ اما در گروه‌های AT، GA و AT+GA، مقادیر این شاخص‌ها به طور معناداری کمتر از گروه PCa مشاهده شد؛ همچنین، مقادیر Cxcl3، CSF-1 و VEGF در گروه AT+GA، به طور معناداری کمتر از گروه‌های AT و GA بود. مقایسهٔ گروه‌ها نشان داد که مقادیر VEGF در گروه GA به طور معناداری کمتر از گروه AT و مقادیر CSF-1 در گروه AT به طور معناداری کمتر از گروه GA بود (P≤۰/۰۰۲).

نتیجه‌گیری: اگرچه تمرین هوازی و مکمل‌دهی اسید گالیک در برخی مسیرهای کاهش‌دهندهٔ Cxcl3، VEGF و CSF-1، مکانیسم‌های مشترک دارند؛ اما تفاوت موجود در برخی از مسیرهای پیام‌رسانی این دو مداخله نشان می‌دهد که ترکیب آنها می‌تواند اثر مطلوب‌تری بر بهبود وضعیت التهابی در الگوی حیوانی کاشت ارتوتوپیک LNCaP در بافت پروستات داشته باشد.

* رایانامه نویسنده مسئول: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۲۵ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۵/۰۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۱/۲۹

واژه‌های کلیدی: تمرین، اسید گالیک، التهاب، کاشت ارتوتوپیک LNCaP.

نحوه استناد به این مقاله: توتونچی اول س، آذربایجانی م، حسینی س ع، سهیلی ش، ارشادی ر. اثرات همزمان تمرین هوازی و مکمل اسید گالیک بر برخی نشانگرهای التهابی بافت پروستات در موش‌های صحرایی پس از کاشت ارتوتوپیک سلول توموری ردهٔ LNCaP . نشریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛۱۹(۳):۹۶-۱۱۰.

مقدمه

سرطان پروستات (PCa) همچنان دومین سرطان شایع در میان مردان است. یافته‌ها نشان می‌دهند که شیوع این بیماری روندی فزاینده دارد و پیامدهای جانی و مالی قابل توجهی را بر جوامع مختلف تحمیل کرده است (۱). باور بر این است که افزایش سن، التهاب مزمن، فشار اکسایشی متأثر از سبک زندگی، عوامل ژنتیکی و عوامل محیطی، همبستگی مستقیمی با بروز این بیماری دارند (۲). از دید پاتوفیزیولوژی تصور می‌شود که افزایش فشار اکسایشی در بافت پروستات توموری می‌تواند با فعال‌کردن مسیرهای منتهی به نیتریک اکسید سنتتاز اندوتلیالی (eNOS)، به فعال شدن عامل پساترجمه‌ای رشد بتا (TGF-β) منجر شود و در ادامه، این پروتئین، افزایش بیان عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) را در پی دارد. همزمان با افزایش رگزایی در بافت مبتلا، گمان می‌رود ماکروفاژ های نوع M1 نیز افزایش یابند که خود می‌تواند به افزایش بیان ژن‌های پیش‌التهابی و التهابی منجر شود؛ به گونه‌ای که در وهلهٔ نخست، پس از افزایش فشار اکسایشی، عامل محرک کلونی نوع ۱ (CSF-1) می‌تواند سلول‌های T را به فعال‌سازی گیرنده‌های شبه تول وادار کند. این فرایند در ادامه، به افزایش سطوح اینترلوکین‌های ۶، ۱۲ و ۲۳، عامل نکروز تومور آلفا (TNF-α)، IL-1β و IL-8 می‌انجامد (۳). در نهایت، افزایش عوامل التهابی به همراه رگزایی، متاستاز آدنوکارسینوما در بافت پروستات و گسترش تومورزایی را در پی دارد (۴).

از طرفی، ورزش همواره به عنوان راهکاری مکمل برای افزایش اثربخشی روش‌های درمانی به بیماران توصیه می‌شود و نقش بالقوه‌ای در بهبود وضعیت سوخت‌وساز و چربی خون در بیماران مبتلا به سرطان دارد (۵). افزون بر این، یافته‌ها نشان می‌دهند که فعالیت‌های ورزشی می‌توانند به افزایش کیفیت زندگی، بهبود قدرت، افزایش عملکرد بدنی و کاهش اضطراب و اختلالات روانشناختی در بیماران مبتلا به PCa منجر شوند. همچنین گمان می‌رود که فعالیت ورزشی منظم و طولانی‌مدت می‌تواند با کاهش خون‌رسانی به تومور، القای آپوپتوز در بافت توموری و افزایش بنیان‌های آزاد در بافت تومور، منجر به مهار متاستاز شود (۶). در زمینهٔ اثرات تمرینات ورزشی بر سرطان پروستات پژوهش‌هایی انجام شده است؛ برای نمونه، یافته‌های مطالعه‌ای نشان داد که هشت هفته تمرین مقاومتی، منجر به افزایش قدرت و تودهٔ ماهیچه‌ای و افزایش میزان دریافت پروتئین در بیماران مبتلا به سرطان پروستات می‌شود (۷). در پژوهش دیگری، محققان نشان دادند که هشت هفته تمرین اختیاری با چرخ‌گردان در الگوی موشی سرطان پروستات، به افزایش تودهٔ ماهیچه‌ای، کاهش میوستاتین و کاهش حجم تومور می‌انجامد؛ با این همه، تغییر معناداری در مقادیر TNF-α، میان گروه‌های تمرین و کنترل دیده نشد (۸). با وجود گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر ورزش بر کاهش حجم تومور و برخی عوامل التهابی، بررسی‌ها نشان می‌دهند که پژوهش‌های محدودی دربارهٔ تأثیر تمرین بر سازوکارهای وابسته به محرک کلونی در بافت پروستات در شرایط بیماری PCa وجود دارد.

باور بر این است که استفاده از ضداکسایندهها، از جمله اسید گالیک (GA) در کنار ورزش می‌تواند اثرات مطلوبی در شرایط بیماری سرطان داشته باشد (۹). GA یک پلی‌فنول است که در ترکیب برخی از میوه ها و گیاهان یافت می‌شود؛ یافته‌ها نشان می‌دهند که به دلیل برخورداری از ترکیبات فنولی، می‌تواند به طور بالقوه و نهفته، خنثی‌کنندهٔ بنیان‌های آزاد باشد. همچنین، GA با کاهش فشار اکسایشی، می‌تواند مسیرهای پیش‌برندهٔ سرطان، مانند مسیر فسفواینوزیتول ۳ کیناز/ پروتئین کیناز A (PI3K/Akt)

مهار کند و ظرفیت ضداکسایندهٔ بافت پروستات را تقویت نماید. از این مسیر، GA می‌تواند از رهایش سیتوکروم-C از میتوکندری جلوگیری کند، احتمال آسیب به DNA را در سلول‌ها کاهش دهد، چرخهٔ حیات سلول را تنظیم نماید و در نهایت منجر به مهار متاستاز شود (۱۰). در پژوهشی نشان داده شد که GA با مهار مسیر PI3K/Akt، رشد و مهاجرت سلول‌های سرطانی تخمدان را کاهش می‌دهد و باعث بهبود قطبش ماکروفاژ به سمت نوع M1 می‌شود که این امر در کاهش عوامل التهابی مؤثر است (۱۱). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که GA با فعال‌سازی کانالTRPM2، مرگ سلول‌های سرطانی لارنکس انسانی که تحت تیمار با سیس‌پلاتین هستند را افزایش می‌دهد که خود با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و فعال شدن کاسپازهای ۳ و ۹ همراه است (۱۲).

پژوهش‌های انجام‌شده دربارهٔ اثرات همزمان تمرین ورزشی و GA بر سرطان، بسیار محدود هستند؛ با این حال، یافته‌های پژوهشی نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی همراه با دریافت GA، به کاهش بیان VEGFα، عامل القاکنندهٔ هایپوکسی-۱ آلفا (HIF1α) و عنصر رونویسی متصل به DNA ۱ (CREB1) در الگوی حیوانی سرطان سینه منجر می‌شود (۱۳). با توجه به اثرات مطلوب تمرینات ورزشی و خواص ضد سرطانی GA، گمان می‌رود تأثیر تعاملی این دو مداخله بر نشانگرهای التهابی بافت پروستات، به‌ویژه در شرایط سرطان پروستات، کمتر مورد توجه قرار گرفته است. انتظار می‌رود نتایج پژوهش حاضر بتواند دانش موجود دربارهٔ اثرات همزمان تمرین و GA را در راستای بهره‌گیری مطلوب از روش‌های درمانی ترکیبی را افزایش دهد. با توجه به محدودیت یافته‌ها در این زمینه، این پژوهش با هدف بررسی اثرات همزمان تمرین هوازی و مکمل اسید گالیک بر برخی نشانگرهای التهابی و ضدالتهابی بافت پروستات، پس از کاشت ارتوتوپیک سلول توموری ردهٔ LNCaP انجام شده است.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این پژوهش تجربی، در کل ۴۵ سر موش صحرایی نژاد ویستار (با سن ۱۰ الی ۱۲ ماه و وزن ۲۶۰ الی ۳۰۰ گرم)، از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی پاستور تهران تهیه شد. این حیوانات برای سازگاری با محیط جدید، به مدت یک هفته در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی کاربردی و بنیادی مؤسسهٔ آموزش عالی پیشتازان شیراز نگهداری شدند. کلیهٔ ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، مطابق با دستورالعمل‌های کمیتهٔ اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت (با کد مصوب IR.IAU.M.REC.1403.494) رعایت شد. موش‌های صحرایی در شرایط استاندارد، شامل دمای ۲۲ تا ۲۴ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ تا ۶۰ درصد و چرخهٔ نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و قابل شست‌وشو، با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژهٔ حیوانات نگهداری می‌شدند و در هر قفس با ابعاد ۷۰*۳۵*۳۵، هفت سر موش صحرایی قرار داشت.

روش اجرای پژوهش: برای کاشت ارتوتوپیک سلول‌های LNCaP و با هدف بررسی تغییرات مولکولی در نشانگرهای رگزایی و التهابی، ابتدا رده‌های سلولی LNCaP و TSP-1-EnSCs، تحت شرایط استاندارد و محیط کشت مناسبی که همهٔ مواد مغذی برای حیات سلول را داشته باشد، از مرکز انستیتو پاستور ایران تهیه شد. این سلول‌ها در RPMI ۱۶۴۰ مکمل با ۵ درصد FBS ساخت Life Technologies کشور کانادا تکثیر و نگهداری شدند. برای آماده‌سازی محلول قابل تزریق به غدهٔ پروستات، مقدار ۱*10^{6} سلول LNCaP در ۷۵

میکرولیتر RPMI ۱۶۴۰، ۵ درصد FBS و ۷۵ میکرولیتر ماتریژل (Collaborative Biomedical Products، بدفورد، ماساچوست) سوسپانسیون تهیه گردید. در ادامه، موش‌های صحرایی با استفاده از ترکیب کتامین ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند. پس از ایجاد یک برش عرضی در پایین حفرهٔ شکمی و انجام برش‌های سطحی و عمقی در ماهیچه‌های شکم، مثانه و سیسمنال وزیکول‌ها از طریق برش آزاد شدند تا لوب پشتی پروستات نمایان گردد. در ادامه، سوسپانسیون مذکور با دقت بالا و از طریق یک سوزن همیلتون گیج، به فضای زیرپوستی سمت راست پروستات تزریق شد. برای بستن جای زخم، از نخ بخیهٔ ۴-۰ قابل جذب ساخت شرکت سوپا (کشور ایران) استفاده شد. در طی دورهٔ پژوهش و پس از جراحی، جای بخیه با محلول OTC ضد عفونی گردید (۱۴). گفتنی است ۲ سر موش صحرایی در زمان القای بیماری تلف شدند.

در ادامه، ۳۵ سر موش‌های صحرایی مبتلا به سرطان پروستات، به طور تصادفی در ۵ گروه قرار گرفتند: ۱- کنترل بیمار (PCa)، ۲- گروه شم (حلال اسید گالیک)، ۳- مکمل اسید گالیک (GA)، ۴-تمرین هوازی (AT) و ۵- تمرین هوازی + اسید گالیک (AT+GA). برای بررسی اثر القای سرطان، ۷ سر موش صحرایی سالم نیز در گروه کنترل سالم قرار گرفت. در نهایت، حجم نمونه در این پژوهش، با استناد به بررسی‌های پیشین، با استفاده از فرمول ارزیابی حجم نمونه برای گروه‌های مستقل تعیین شد و توان آزمون ۸۰ ٪ به دست آمد (۸).

موش‌های صحرایی مبتلا به سرطان پروستات، به مدت یک هفته با نوارگردان ویژهٔ موش‌های صحرایی و تمرینات ورزشی آشنا شدند؛ چنانکه روزانه ۱۰ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه بر روی نوارگردان بدون شیب می‌دویدند؛ سپس، بر پایهٔ پژوهش مک کلوق[1] و همکاران (۲۰۱۳)، تمرین به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته انجام شد. شدت تمرین برابر با ۶۰ دقیقه دویدن با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در شیب ۱۵ درجه بود. برای رعایت اصل اضافه‌بار، زمان تمرین در هفته‌های اول تا چهارم ۳۰ دقیقه بود و از هفتهٔ چهارم تا هشتم به ۶۰ دقیقه رسید (۱۵).

روزانه ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اسید گالیک (ساخت شرکت سیگما آلدریچ، کشور آمریکا) به صورت گاواژ به موش‌های صحرایی خورانده می‌شد (۱۶). با توجه به وزن بدن آنها در گروه‌های مکمل، روزانه ۷۲ میلی‌گرم اسید گالیک با ۲/۸ سی‌سی آب و ۱/۴ سی‌سی طعم‌دهندهٔ غذا ترکیب و حل می‌گردید. سپس هر موش ۳۰ واحد بین‌المللی از این محلول همگن را دریافت می‌کرد. در طول دورهٔ پژوهش، برای کنترل اثر استرس گاواژ و تأثیر حلال، تنها محلولِ طعم‌دهنده و آب به گروه شم خورانده می‌شد.

روش‌های آزمایشگاهی: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین و در حالت ناشتایی ۱۲ ساعته، موش‌های صحرایی با استفاده از ترکیب کتامین (۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلوزین (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. جهت اطمینان از بیهوشی و بی‌دردی کامل، از آزمون‌های تشخیص درد (مانند فشردن دم، اندام عقبی و ضربهٔ ملایم به شکم) استفاده گردید. پس از تأیید بیهوشی، شکم موش‌های صحرایی با تیغ جراحی اندازهٔ ۲۰ شکافته شد و پس از کنار زدن بافت‌های همبند، بافت پروستات با دقت استخراج گردید. بافت‌های استخراج‌شده بلافاصله در میکروتیوپ‌های ویژه قرار گرفتند و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در تانک ازت غوطه‌ور شدند. پس از آن نیز به دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شدند.

در پژوهش حاضر، مقادیر CSF-1، Cxcl3 و VEGF با استفاده از روش qReal Time PCR اندازه‌گیری شد. با

توجه به اینکه در ژنوم موش صحرایی، ژن معادل مستقیم CXCL8 (IL-8) انسانی وجود ندارد، در این مطالعه، بیان همولوگ عملکردی آن؛ یعنی ژن C-X-C motif chemokine ligand 3 (Cxcl3) که با نام CINC-2αنیز شناخته می‌شود، مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تکثیر، آغازگرهای اختصاصی برای mRNAژن Cxcl3 موش صحرایی (Rattus norvegicusبا شناسهٔ Gene ID: 171551 طراحی شدند و محصولی به طول ۱۴۵ جفت‌باز ایجاد کردند. بدین منظور، ابتدا از مقدار کمی از بافت هموژنیزه‌شده برای ساخت RNA استفاده شد. ساخت RNA با استفاده از کیت FavorPrep™ Tissue Total RNA Kit (شمارهٔ کاتالوگ: FATRK 001، ساخت کشور تایوان) انجام گرفت. در ادامه، درصد خلوص RNA، با استفاده از روش اسپکتوفتومتری با طول موج ۲۶۰ نانومتر و دستگاه پیکو دراپ (ساخت شرکت سیگما، امریکا) ارزیابی شد. پس از اطمینان از مطلوب بودن غلظت نمونه‌ها، برای سنتز cDNA، از کیت فرمنتاز شرکت Thermo Scientific (شمارهٔ کاتالوگ: K1621)استفاده گردید. واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit صورت گرفت. هنگام تهیهٔ cDNA از نمونهٔ تخلیص‌شده پس از خوانش میزان جذب، حجمی معادل ۱۰۰۰ نانوگرم RNA برداشته شد؛ سپس 0.5µL Random Hexamers و 0.5µL از آغازگر oligodT (الیگودئوکسی ریبو نوکلئوتید به عنوان آغازگری برای ساخت cDNA استفاده می‌شود) به آن اضافه گردید و حجم نهایی با افزودن ۱۲ میکرولیتر آب DEPC تنظیم شد. ترکیب حاصل به مدت ۵ دقیقه، در دمای ۶۵ درجه قرار گرفت؛ سپس به مدت ۲ دقیقه روی یخ نگه داشته شد تا ساختارهای ثانویه RNA از هم باز شوند. در مرحلهٔ بعد، 1µL ،2µL dNTP ،4µL 5X Reaction Buffer RiboLock RNase Inhibitor و 1µL RevertAid RT به ترکیب مذکور افزوده شد. ترکیب حاصل، ابتدا به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه و پس از آن، به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. در نهایت، به منظور از کار افتادن آنزیم RT، تیوب‌های واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند.

جهت بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از Real-time PCR، همهٔ آغازگرها توسط نرم‌افزار Allele IDv7.8 طراحی شدند و از ژن TATA-binding protein (TBP) به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. تمامی آغازگرها به گونه‌ای طراحی شدند که اتصال آنها در اگزون - اگزون باشد. جهت اطمینان از عدم تکثیر DNA ژنومی، واکنش PCR بر روی ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرم RNA در تیوب‌های جداگانه انجام شد و نتایج با ژل آگاروز ۱/۵ درصد بررسی گردید. تکثیر cDNA و دیدن نوار (باند) مورد انتظار توسط آغازگر اختصاصی، در کنار عدم تکثیر RNA پس از واکنش PCR، نمایانگر عدم تکثیر DNA ژنومی بود. پس از تعیین کارایی آغازگرها که در محدودهٔ ۹۵ تا ۱۰۵ درصد قرار داشت و محاسبهٔ شیب خط (M) در دامنهٔ ۳/۴۵- و ۳/۲۰-، بررسی بیان ژن‌های گروه‌های سلولی با استفاده از مخلوط PCR، RealQ 2x Master mix Green Dye (ساخت شرکت AMPLQON، آلمان) بر پایهٔ شیوه‌نامهٔ کیت انجام شد؛ سپس نمونه‌ها با آغازگرهای طراحی‌شده که پیش از این، کارایی آنها در سایت PUBMED ارزیابی شده بود، ترکیب و در دستگاه Real Time PCR با نان Step One (ساخت کشور ایتالیا) قرار داده شدند. برنامهٔ دستگاه مذکور به صورت ۲ مرحله‌ای تنظیم گردید. در نهایت، پس از اتمام فعالیت دستگاه و دیدن نمودارهای مربوط به افزایش قطعات مورد نظر و میزان نشر فلورسانس، محاسبات بر پایهٔ مقدار سیکل آستانه (Ct) و با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام شد.

جدول ۱. توالی آغازگرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
TBP	Forward: 5'-GCGGGGTCATGAAATCCAGT-3' Reverse: 5'-AGTGATGTGGGGACAAAACGA -3'	147
VEGF	Forward: 5'-ACTTGAGTTGGGAGGAGGATGTC-3' Reverse: 5'-GGATGGGTTTGTCGTGTTTCTGG-3'	183
CSF-1	Forward: 5'-ATGCTCTAGCAGAGATGTGGTG -3' Reverse: 5'-ATCATCCCAAGCCAAGTCAGC -3'	145
Cxcl3 (IL-8)	Forward: 5'-CCCAAACCGAAGTCATAGCCA-3' Reverse: 5'-ACGCCATCGGTGCAATCTAT-3'	145

تحلیل آماری: در بخش آمار توصیفی، داده‌ها بر پایهٔ میانگین و انحراف استاندارد ارائه گردیدند. بررسی بهنجار بودن توزیع داده‌ها، با استفاده از آزمون شاپیرو - ویلک انجام گرفت. با توجه به تأیید نرمال بودن توزیع، برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و برای تعیین محل تفاوت‌ها، از آزمون تعقیبی توکی در نرم‌افزار SPSS ویراست ۲۲ با سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده شد.

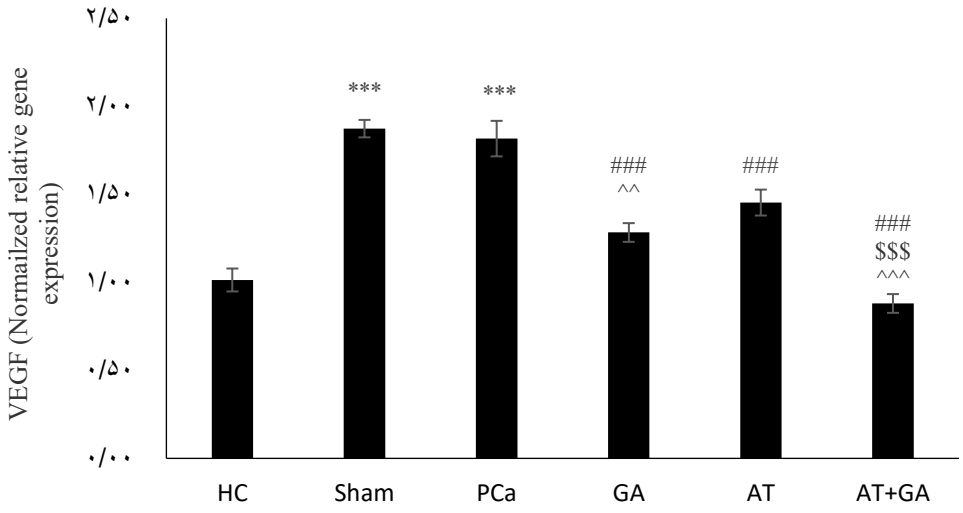
نتایج

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه نشان داد که تفاوت معناداری در مقادیر شاخص‌های VEGF (P≤۰/۰۰۱ و F=۲۱۴/۱۸)، CSF-1 (P≤۰/۰۰۱ و F=۱۱۸۸/۲۴) و Cxcl3 (P≤۰/۰۰۱ و F=۷۳۱/۶۹) در گروه‌های مورد بررسی وجود دارد.

بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی (شکل ۱)، مقادیر VEGF در گروه PCa، به طور معناداری بیشتر از گروه HC بود (P≤۰/۰۰۱). هرچند تفاوت معناداری بین گروه PCa و Sham دیده نشد (P=۰/۷۰)؛ اما مقادیر VEGF در گروه‌های GA (P≤۰/۰۰۱)، AT (P≤۰/۰۰۱) و AT+GA (P≤۰/۰۰۱)، به طور معناداری کمتر از گروه PCa گزارش شد. همچنین سطح VEGF در گروه‌های GA، به طور معناداری کمتر از گروه AT (P=۰/۰۰۲) و در گروه AT+GA، به طور معناداری کمتر از گروه‌های AT (P≤۰/۰۰۱) و GA (P≤۰/۰۰۱) بود.

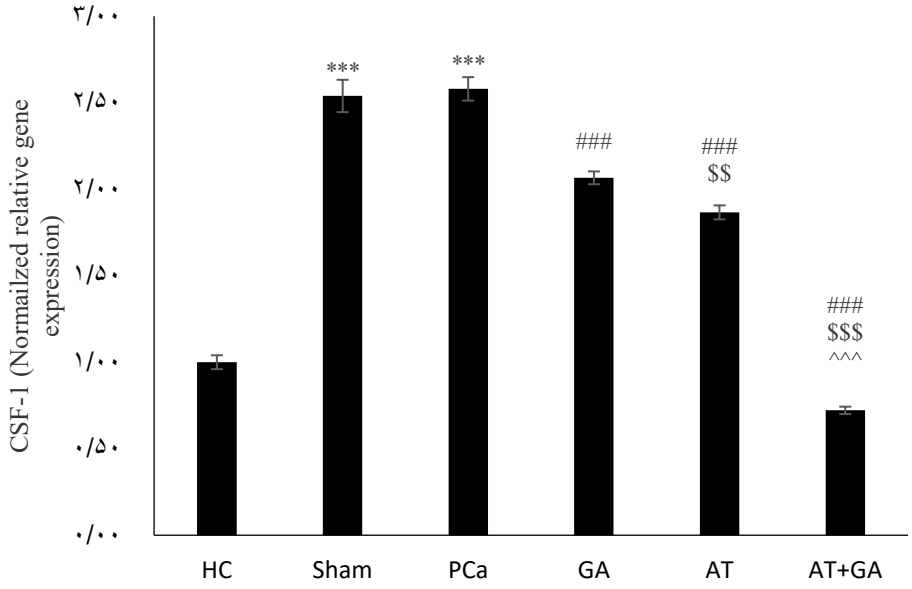
در بررسی مقادیر CSF-1، نتایج نشان داد که این شاخص در گروه PCa، به طور معناداری بیشتر از گروه HC است (P≤۰/۰۰۱). بین گروه PCa و Sham تفاوت معناداری دیده نشد (P=۰/۷۹)؛ اما در گروه‌های GA (P≤۰/۰۰۱)، AT (P≤۰/۰۰۱) و AT+GA (P≤۰/۰۰۱)، مقادیر CSF-1، به طور معناداری نسبت به گروه PCa کاهش یافت. در گروه‌های AT (P=۰/۰۰۲) و AT+GA (P≤۰/۰۰۱) نیز مقادیر CSF-1، به طور معناداری کمتر از گروه GA بود. افزون بر این، مقادیر این شاخص در گروه AT+GA، به طور معناداری کمتر از گروه AT گزارش شد (P≤۰/۰۰۱) (شکل ۲).

در خصوص مقادیر Cxcl3، نتایج حاکی از آن بود که سطوح این شاخص در گروه PCa، به طور معناداری بالاتر از گروه HC است (P≤۰/۰۰۱). تفاوت معناداری بین گروه PCa و Sham نیز دیده نشد (P=۰/۹۹)؛ اما در گروه‌های GA (P≤۰/۰۰۱)، AT (P≤۰/۰۰۱) و AT+GA (P≤۰/۰۰۱)، به طور معناداری کمتر از گروه PCa بود. هرچند تفاوت معناداری در گروه‌های AT و GA دیده نشد (P=۰/۰۵۸)؛ اما مقادیر Cxcl3 در گروه AT+GA، به طور معناداری کمتر از گروه‌های AT (P≤۰/۰۰۱) و GA (P≤۰/۰۰۱) بود (شکل ۳).



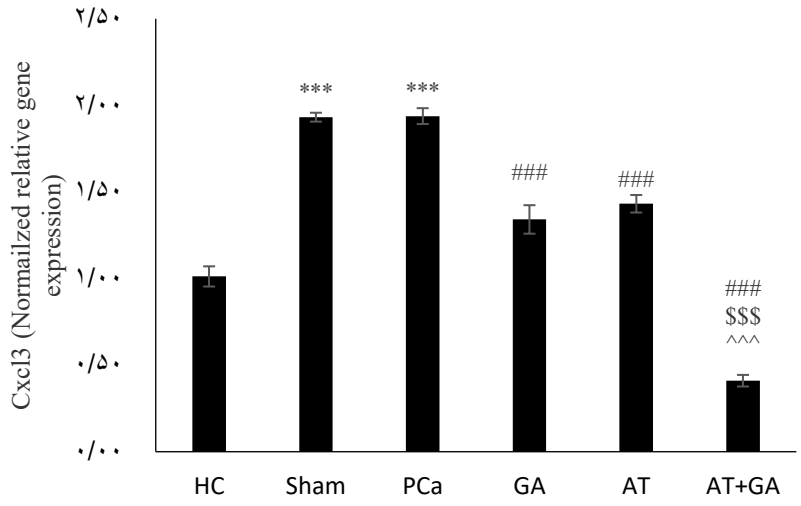
شکل ۱. مقادیر بیان ژنی VEGF در بافت پروستات در گروه‌های مورد بررسی

***** تفاوت معنادار (P≤۰/۰۰۱) نسبت به گروه HC؛ ### تفاوت معنادار (P≤۰/۰۰۱) نسبت به گروه PCa؛ ^^ (P≤۰/۰۱) و ^^^ (P≤۰/۰۰۱) تفاوت معنادار نسبت به گروه AT؛ $$$ (P≤۰/۰۰۱) تفاوت معنادار نسبت به گروه GA**



شکل ۲. مقادیر بیان ژنی CSF-1 در بافت پروستات در گروه‌های مورد بررسی

***** تفاوت معنادار(P≤۰/۰۰۱) نسبت به گروه HC؛ ### تفاوت معنادار (P≤۰/۰۰۱) نسبت به گروه PCa؛ ^^^ تفاوت معنادار (P≤۰/۰۰۱) نسبت به گروه AT؛ $$$ (P≤۰/۰۰۱) و $$ (P≤۰/۰۱) تفاوت معنادار نسبت به گروه GA**



شکل ۳. مقادیر بیان ژنی Cxcl3 در بافت پروستات در گروه‌های مورد بررسی

***** تفاوت معنادار(P≤۰/۰۰۱) نسبت به گروه HC؛ ### تفاوت معنادار(P≤۰/۰۰۱) نسبت به گروه PCa؛ ^^^ تفاوت معنادار (P≤۰/۰۰۱) نسبت به گروه AT؛ $$$ (P≤۰/۰۰۱) و $$ (P≤۰/۰۱) تفاوت معنادار نسبت به گروه GA**

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌ها حاکی از آن است که در گروه PCa، مقادیر VEGF، CSF-1 و Cxcl3، به طور معناداری بیشتر از گروه HC است. بررسی‌ها نشان می‌دهند که با شروع فرایند متاستاز، افزایش پدیده‌های التهاب و رگزایی اتفاق می‌افتد؛ به گونه‌ای که فعال‌سازی گیرنده‌های سیکلوکسیژناز مانند CXCR2، پس از هایپوکسی یا افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، منجر به افزایش بیان eNOS و افزایش VEGF می‌گردد، در ادامه، گیرنده‌های آندروژنی، عامل رونویسی هسته‌ای کاپا B (NF-kB) و HIF-1 فعال می‌شوند که در نهایت، باعث فعال شدن عوامل التهابی مانند IL-8 می‌گردند. در واقع، گمان می‌رود که IL-8 و VEGF، پیام‌رسانی رونویسی از عوامل التهابی و تومورزا را تسهیل می‌کنند و منجر به شروع متاستاز در بافت پروستات می‌شوند (۱۸ و ۱۷). به نظر می‌رسد پیش از القای تومورزایی متعاقب هایپوکسی در شرایط PCa، سلول‌های ردهٔ $CD8^+$ و ماکروفاژهای نوع M2 فعال می‌گردند و از مسیر NF-kB، رونویسی از عوامل التهابی را آغاز می‌کنند و این امر به طور بالقوه و نهفته در افزایش تومورزایی در بافت پروستات نقش دارد (۳). در این راستا، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که القای سرطان با ردهٔ سلولی LNCaP، منجر به افزایش بیان ژن‌های VEGF-a و IL-8 در بافت پروستات موش‌های صحرایی می‌شود؛ در حالی که دریافت آنتاگونیست گیرنده‌های آندروژنی، بیان این دو آنکوژن را کاهش می‌دهد (۱۷). در پژوهش دیگری نیز افزایش بیان IL-8 و VEGF در ردهٔ سلولی PC-3 انسانی گزارش شده است (۱۸).

بر اساس یافته‌ها، در گروه AT، مقادیر VEGF، CSF-1 و Cxcl3، به طور معناداری کمتر از گروه PCa است. از طرفی، باور بر این است که ورزش با سازوکار افزایش مایوکاین‌هایی مانند آیریزین، می‌تواند منجر به تغییر در فرایند زیستی سلول‌های کشندهٔ طبیعی در بافت‌های در معرض تومور شود؛ به گونه‌ای که این مایوکاین‌ها باعث تعادل بین ماکروفاژهای نوع M1 و M2 می‌شوند یا به عبارتی، با سرکوب ماکروفاژهای نوع M2، ماکروفاژهای نوع M1 را فعال‌تر می‌کنند و در این صورت، با کاهش بیان CSF-1، NF-kB، CXCR2 و عوامل تومورزا، متاستاز و حجم تومور در PCa کاهش می‌یابد (۱۹). افزون بر این، تصور می‌شود که ورزش با سازوکار القای

آپوپتوز در تومور و افزایش متالوپروتئازها، می‌تواند منجر به مهار MCP-1 و G-CSF شود که در نهایت، با کاهش بیان TGF، منجر به کاهش بیان VEGF می‌گردد (۲۰). همسو با این پژوهش، یک بررسی مروری نشان داد که تمرینات ورزشی منظم و طولانی‌مدت، اعم از مقاومتی، هوازی و تناوبی شدید می‌توانند منجر به کاهش عوامل التهابی در بیماران مبتلا به PCa شوند (۲۰). پژوهشی دیگر نیز نشان داد که شش هفته تمرین استقامتی می‌تواند کاهش بیان IL-17 و IL-8 را در بافت تومور کاشته‌شده در موش آزمایشگاهی به دنبال داشته باشد (۲۱). در مطالعه‌ای دیگر، افزایش VEGF و HIF-1α به واسطهٔ miR-126 در بافت توموری مشاهده شد؛ اما تمرینات ورزشی از طریق مهار مسیرهای پیام‌رسانی PI3K/Akt و ERK/MAPK، منجر به کاهش بیان این پروتئین‌ها در سرطان روده گردید (۲۲). علی‌رغم این بررسی‌ها، گمان می‌رود که اطلاعات موجود دربارهٔ تأثیر ورزش بر مسیرهای ایمنی وابسته به CSF همچنان محدود باشد؛ لذا مطالعهٔ حاضر، با بررسی تأثیر ورزش بر این مسیرها از نوآوری لازم برخوردار است.

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که در گروه GA، مقادیر VEGF، CSF-1 و Cxcl3، به طور معناداری کمتر از گروه PCa است. یافته‌های پژوهش‌های پیشین نیز نشان می‌دهند که GA به دلیل داشتن خواص ضدالتهابی و ضداکساینده می‌تواند اثری محافظتی در برابر پیشرفت سرطان داشته باشد. البته باور بر این است که GA با القای آپوپتوز، کاهش آنژیوژنز و تنظیم چرخهٔ سلولی، منجر به مهار متاستاز و کاهش حجم تومور می‌شود؛ همچنین، گمان می‌رود با سازوکار فعال‌سازی سایکلین E، D، افزایش P21، P27 و P53 و کاهش CDK4، نظم چرخهٔ سلولی را در فاز G0/G1 برقرار می‌سازد و در نهایت با تنظیم کاهش مسیر EGFR/JAK2/STAT5 منجر به مهار متاستاز می‌شود (۲۳). در این زمینه، مطالعهٔ Meng و همکاران حاکی از آن است که دریافت GA، به کاهش بیان مسیر پیام‌رسانی PI3K/Akt در ماکروفاژ نوع M1 و کاهش عوامل التهابی در سرطان تخمدان منجر می‌شود (۱۱). علاوه بر این، GA مرگ سلولی القا شده توسط سیس‌پلاتین را در سلول‌های سرطانی تقویت می‌کند و مسیرهای آپوپتوتیک وابسته به ROS و کاسپازها را فعال می‌گرداند (۱۲). یک بررسی مروری نیز بیان داشت که GA با سازوکار PTEN/AKT/HIF-1α/VEGF، می‌تواند منجر به مهار آنژیوژنز و کاهش متاستاز در بیماری سرطان شود (۲۵). همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، پژوهش‌های دیگری نیز گزارش کرده‌اند که دریافت GA می‌تواند کاهش بیان AKt، HIF-1α، PTEN و VEGF را در سلول‌های سرطانی تخمدان در پی داشته باشد (۲۴).

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که در گروه AT+GA، مقادیر VEGF، CSF-1 و Cxcl3، به طور معناداری کمتر از گروه PCa است. اگرچه پژوهشی یافت نشد که به بررسی اثر همزمان تمرین و GA بر سرطان پروستات پرداخته باشد؛ اما یافته‌های پژوهشی در مدل‌های حیوانی مبتلا به سرطان سینه نشان داد که هشت هفته دریافت GA، کاهش بیان VEGFα، HIF1α و CREB1 (۱۳) و بهبود نرون‌زایی و عوامل نوتروفیک در بافت مغز را به همراه دارد (۱۳). گمان می‌رود ورزش با سازوکار افزایش مایوکاین‌ها، سرکوب ماکروفاژهای نوع M2، کاهش بیان CSF-1، NF-kB، CXCR2، مهار MCP-1 و G-CSF و کاهش TGF و VEGF، در نهایت، کاهش متاستاز و حجم تومور در PCa را در پی دارد (۲۰ و ۱۹). از سوی دیگر، GA از طریق تنظیم چرخهٔ سلولی و مهار مسیرهای پیام‌رسانی نظیر EGFR/JAK2/STAT5 و PTEN/AKT/HIF-1α/VEGF، موجب افزایش آپوپتوز در بافت تومور، کاهش متاستاز، کاهش التهاب در بافت درگیر و پیشگیری از رشد تومور می‌شود (۱۱، ۱۲، ۲۳ و ۲۵)؛

بنابراین، گمان می‌رود هر دو این مداخله در مسیرهای القای آپوپتوز بر بافت تومور، مهار HIF1α و مهار آنژیوژنز در بافت درگیر، مشترک باشند. از این رو، اثر تعاملی AT و GA بر کاهش مقادیر VEGF، CSF-1 و Cxcl3 در گروه AT+GA نسبت به گروه‌های AT و GA، به مشترک بودن این مسیرها نسبت داده می‌شود. مقادیر VEGF در گروه‌های GA نیز به طور معناداری کمتر از گروه AT و مقادیر CSF-1 در گروه AT+GA، به طور معناداری کمتر از گروه AT بود. در توجیه این تفاوت، می‌توان به نقش متناقض ورزش بر تنظیم عوامل التهابی اشاره کرد، به گونه‌ای که ورزش حاد با افزایش فشار اکسایشی و افزایش التهاب در سازگاری‌های بلندمدت اثر می‌گذارد. در پژوهشی نیز تأثیر معناداری بر کاهش عوامل التهابی پس از ورزش دیده نشد (۸). در مقابل، GA به طور مستقیم، ضداکساینده بودن، تنظیم چرخهٔ سلولی و کاهش التهاب را رقم می‌زند (۱۱، ۱۲، ۲۳ و ۲۵). بنابراین، گمان می‌رود اثرگذاری قوی‌تر GA بر کاهش VEGF در بافت پروستات، ناشی از اثرگذاری آن بر مسیرهای بیولوژیکِ متفاوت در بافت‌های توموری در مقایسه با بافت‌های سالم باشد. با توجه به نقش GA در مهار مسیرهای پیام‌رسانی PTEN/AKT/HIF-1α/VEGF و EGFR/JAK2/STAT5، نبود ارزیابی این مسیرهای بالادستی رگزایی از محدودیت‌های پژوهش حاضر به شمار می‌آید؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود در آینده بررسی شوند. همچنین، با توجه به نقش ورزش در افزایش مایوکاین‌ها و مهار NF-kB، CXCR2 و MCP-1، نبود مطالعه در این حوزه نیز از دیگر محدودیت‌های این پژوهش است که نیاز به واکاوی در پژوهش‌های آینده دارد. افزون بر این، برای اطمینان از کاهش حجم تومور و بررسی دقیق پاتولوژی بافت پروستات، پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی، ارزیابی‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک به صورت همزمان انجام پذیرد.

در کل، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که اگرچه تمرینات هوازی و مکمل‌دهی اسید گالیک، تنها در برخی مسیرها در کاهش شاخص‌های Cxcl3، VEGF و CSF-1 اشتراک دارند؛ اما با وجود تفاوت در برخی از مسیرهای پیام‌رسانی، گمان می‌رود این دو مداخله می‌توانند به طور همزمان اثر مطلوب‌تری بر بهبود مسیر پیام‌رسانی التهابی در مدل کاشت ارتوتوپیک سلول توموری ردهٔ LNCaP داشته باشند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهش دانشگاه آزاد واحد کیش تشکر و قدردانی می‌گردد.

حمایت مالی

این پژوهش حامی مالی نداشت.

مشارکت نویسندگان

طراحی و ایده‌پردازی: محمدعلی آذربایجانی، سیدعلی حسینی و شهرام سهیلی؛ روش‌شناسی و تحلیل داده‌ها: سایه توتونچی اصل؛ نظارت و نگارش نهایی: سایه توتونچی اصل، محمدعلی آذربایجانی و روح‌الله ارشادی.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که مقالهٔ حاضر، فاقد هرگونه تعارض منافع است.

پی‌نوشت

[1] McCullough

منابع

1. Song Y, Hou Z, Zhu L, Chen Y, Li J. Oxidative stress as a catalyst in prostate cancer progression: unraveling molecular mechanisms and exploring therapeutic interventions. Discov Oncol. 2025;16(1):457. | https://doi.org/10.1007/s12672-025-02245-4

2. Naiki-Ito A, Naiki T, Takahashi S. Exploring experimental models of prostate cancer in chemoprevention: Oxidative stress as a key pathway to translational research. Pathol Int. 2025;75(3):131–44. https://doi.org/10.1111/pin.13509

3. Liu R, Lu J, Liu J, Liao Y, Guo Y, Shi P, et al. Macrophages in prostate cancer: dual roles in tumor progression and immune evasion. J Transl Med. 2025;23(1):615. https://doi.org/10.1186/s12967-025-06519-x

4. Lin M, Sun X, Lv L. New insights and options into the mechanisms and effects of combined targeted therapy and immunotherapy in prostate cancer. Mol Ther. 2023;29:91–106. https://doi.org/10.1016/j.omto.2023.04.007

5. Hosseini A, Kazemi N, Shadmehri S, Salehi OR. Lipid lowering effects of pilates training in women with breast cancer. Iran J Breast Dis. 2017;10(3):21–30.

6. Webber M, Li M, Cai C, Zou K. Effects of exercise training on prostate cancer: current evidence and potential molecular mechanisms. Adv Exerc Heal Sci. 2024;1(3):160–9 https://doi.org/10.1016/j.aehs.2024.08.003.

7. Houben LHP, Overkamp M, Van Kraaij P, Trommelen J, Van Roermund JGH, De Vries P, et al. Resistance exercise training increases muscle mass and strength in prostate cancer patients on androgen deprivation therapy. Med Sci Sports Exerc. 2022;55(4):614. https://doi.org/10.1249/mss.0000000000003095

8. Patel DI, Abuchowski K, Sheikh B, Rivas P, Musi N, Kumar AP. Exercise preserves muscle mass and force in a prostate cancer mouse model. Eur J Transl Myol. 2019;29(4):8520. https://doi.org/10.4081/ejtm.2019.8520

9. Malekpoor Z, Taghian F, Jalali Dehkordi K. The effect of aerobic exercise combined with the combination of gallic acid and kaempferol on neurogenesis caused by the side effects of paclitaxel in mice with breast cancer. J Isfahan Med Sch. 2023;41(722):427–37. https://doi.org/10.48305/jims.v41.i722.0427

10. Holghoomi R, Kiani MH, Rahdar A, Hashemi SM, Ferreira LFR, Fathi-karkan S. Nanoparticle-delivered gallic acid: A new frontier in cancer therapy. J Drug Deliv Sci Technol. 2024;101:106129. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.106129

11. Meng R, Zhang Z. Gallic Acid Inhibits the Proliferation and Migration of Ovarian Cancer Cells via Inhibition of the PI3K-AKT Pathway and Promoting M1-Like Macrophage Polarization. Anal Cell Pathol. 2025;2025(1):3880719. https://doi.org/10.1155/ancp/3880719

12. Yazgan Y, Cinar R. Gallic acid enhances cisplatin-induced death of human laryngeal cancer cells by activating the TRPM2 channel. In: Doklady Biochemistry and Biophysics. Springer; 2025. p. 221–31. https://doi.org/10.1134/s1607672924601276

13. Malekpoor Z, Taghian F, Jalali DK. The effect of endurance training and consumption of gallic acid and kaempferol on the expression of ARC, VEGFα, HIF1α and CREB1 genes in mice with breast cancer treated with paclitaxel. 2024;22-40. http://dx.doi.org/10.61186/ijbd.17.1.22

14. Liu W, Zhu Y, Ye L, Zhu Y, Wang Y. Establishment of an orthotopic prostate cancer xenograft mouse model using

microscope-guided orthotopic injection of LNCaP cells into the dorsal lobe of the mouse prostate. BMC Cancer. 2022;22(1):173. https://doi.org/10.1186/s12885-022-09266-0

15. McCullough DJ, Nguyen LM-D, Siemann DW, Behnke BJ. Effects of exercise training on tumor hypoxia and vascular function in the rodent preclinical orthotopic prostate cancer model. J Appl Physiol. 2013;115(12):1846–54. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00949.2013

16. Ojo OA, Rotimi DE, Ojo AB, Ogunlakin AD, Ajiboye BO. Gallic acid abates cadmium chloride toxicity via alteration of neurotransmitters and modulation of inflammatory markers in Wistar rats. Sci Rep. 2023;13(1):1577. https://doi.org/10.1038/s41598-023-28893-6

17. Maxwell PJ, McKechnie M, Armstrong CW, Manley JM, Ong CW, Worthington J, et al. Attenuating adaptive VEGF-A and IL8 signaling restores durable tumor control in AR antagonist–treated prostate cancers. Mol Cancer Res. 2022;20(6):841–53. https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-21-0780

18. Kim SJ, Uehara H, Karashima T, Mccarty M, Shih N, Fidler IJ. Expression of interleukin-8 correlates with angiogenesis, tumorigenicity, and metastasis of human prostate cancer cells implanted orthotopically in nude mice. Neoplasia. 2001;3(1):33–42. https://doi.org/10.1038/sj.neo.7900124

19. Rusu L, Mihai TA, Schenker RA, Marin MI, Schenker M, Streba CT, et al. The effect of physical exercises on TNF-α, IL-6, and IL-8 cytokines expression and NK cells in cancer. Rom J Morphol Embryol. 2025;66(1):89. https://doi.org/10.47162/rjme.66.1.08

20. Sun Y, Ma Y, Shi L, Liu T, Dong Y, Jin Q. The impact and molecular mechanisms of exercise in cancer therapy. Curr Issues Mol Biol. 2025;47(5):374. https://doi.org/10.3390/cimb47050374

21. Kazemi AR, Agha Alinejad H, Eslami R, Ehsan P, Baghaei R, Dabaghzadeh R, et al. Investigating the effect of endurance training on tumor level of IL-8 and serum level of IL-17 in female mice with breast cancer. J Adv Biomed Sci. 2015;5(3):347–55. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.22285105.2015.5.3.10.9

22. Liu Z, Ke S, Wan Y. miR-126: a bridge between cancer and exercise. Cancer Cell Int. 2025;25(1):145. https://doi.org/10.1186/s12935-025-03784-0

23. Kang DY, Bae SW, Jang K-J. Natural bioactive gallic acid shows potential anticancer effects by inhibiting the proliferation and invasiveness behavior in human embryonic carcinoma cells. Mol Med Rep. 2025;31(6):151. https://doi.org/10.3892/mmr.2025.13516

24. He Z, Chen AY, Rojanasakul Y, Rankin GO, Chen YC. Gallic acid, a phenolic compound, exerts anti-angiogenic effects via the PTEN/AKT/HIF-1α/VEGF signaling pathway in ovarian cancer cells. Oncol Rep. 2016;35(1):291–7. https://doi.org/10.3892/or.2015.4354

25. Jiang Y, Pei J, Zheng Y, Miao Y, Duan B, Huang L. Gallic acid: A potential anti-cancer agent. Chin J Integr Med. 2022;28(7):661–71. https://doi.org/10.1007/s11655-021-3345-2