

اثر مصرف مکمل سیر بر سطوح پروتئین و بیان ژن پاراکسوناز-۱ بافت قلب در رت‌های ماده مبتلا به پرفشاری خون پس از یک دوره تمرین استقامتی

محبوبه کریمی زاد کمارج^۱، آسیه عباسی دلویی^۱، علیرضا براری^۱، سید جواد ضیاءالحق^۲

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. abbasi.dalooi@gmail.com

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۸/۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: پاراکسوناز-۱ آنزیم آنتی اکسیدانی موجود در سطح HDL است که در جلوگیری از فشار خون بالا و عوارض آن نقش دارد. هدف از این تحقیق بررسی اثر مصرف مکمل سیر بر سطوح پروتئین و بیان ژن پاراکسوناز-۱ بافت قلب در رت‌های ماده مبتلا به پرفشاری خون پس از یک دوره تمرین استقامتی بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۰ سر موش ماده ویستار با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم به طور تصادفی در ۶ گروه شامل کنترل سالم، شم، القاء فشار خون (هایپر)، سیر، تمرین استقامتی، تمرین استقامتی-سیر تقسیم شدند. رت‌ها پس از یک دوره رژیم غذایی و تزریق ماده L-NAME به میزان ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن، ۶ روز در هفته به مدت ۸ هفته به پرفشاری خون مبتلا گردیدند. سپس گروه‌های تجربی به مدت شش هفته ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مکمل سیر دریافت کردند. برنامه تمرین استقامتی نیز با سرعت ۲۰ تا ۳۰ متر در دقیقه و مدت ۲۰ الی ۳۵ دقیقه، پنج جلسه در هفته و به مدت شش هفته اجرا شد. سطوح پروتئین و میزان بیان ژن با استفاده از کیت الایزا و روش Real Time PCR اندازه‌گیری و داده‌ها به روش t همبسته، تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تجزیه و تحلیل گردیدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بین میانگین پروتئین و بیان ژن پاراکسوناز-۱ بافت قلب رت‌های ماده مبتلا به پرفشاری خون در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت معناداری وجود ندارد ($p < 0.05$). هم‌چنین بین سطوح پروتئین پاراکسوناز-۱ بافت قلب در گروه‌های مختلف نسبت به گروه القاء فشار خون تفاوت وجود نداشت ($P = 0.05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد که کافی نبودن دوره ورزش (تواتر و شدت تمرینات) و میزان مکمل سیر می‌توانند از جمله علل احتمالی عدم اثربخشی در پژوهش حاضر باشند.

واژه‌های کلیدی: تمرین، سیر، فشار خون بالا، پاراکسوناز-۱، رت‌های ماده.

مقدمه

بطنی و اختلال عملکرد اندوتلیال است. این بازسازی با یک بافت قلب سخت تر به پایان می‌رسد (۱۵). مطالعات با استفاده از مدل‌های مختلف فشار خون بالا، مانند مهار سنتز نیتریک اکساید توسط L-NAME به طور قوی نشان می‌دهد که توسعه فیروز قلبی با فرآیندهای التهابی ناشی از جذب سلول‌هایی مانند

فشار خون بالا از جمله عوامل خطرزایی است که می‌تواند در بیماری‌های مختلف از جمله آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی-عروقی نقش داشته باشد. پرفشاری خون مزمن اغلب منجر به رسوب کلاژن بیش از حد (فیروز) به عنوان بخشی از فرآیند بازسازی قلب و عروق می‌شود که شامل هیپرتروفی

ماکروفازها به درون بطن چپ همراه است (۳۱). هم-چنین شواهد حاکی از افزایش استرس اکسایشی و کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانتی در شرایط فشارخون بالا می‌باشد (۲۲). پاراکسوناز یک آنزیم گلیکوپروتئینی است که به سطح لیپوپروتئین‌های پرچگال HDL باند می‌شود و فعالیت آن همبستگی بالایی با بیماری‌های قلبی عروقی و آسیب بافتی برخی اندام‌ها دارد و سطوح آن در بیماران مبتلا به فشارخون بالا مورد بررسی قرار گرفته است (۱۶). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که PON1 نقش مهمی در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید نه تنها LDL بلکه HDL نیز دارد (۲۸). سیر با نام علمی *Allium stivum* از جمله مواد غذایی است که از دیرباز به واسطه ارزش غذایی و اثرات درمانی مورد توجه قرار گرفته است (۲۵). سیر از بخش‌ها و ترکیبات متعدد آلی، معدنی و ویتامین‌ها تشکیل یافته است. قسمت اعظم ترکیبات سولفوری از آلئوسین و ترکیبات دی‌آلیل‌دی‌سولفید و دی‌آلیل‌تری‌سولفید تشکیل شده است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بوده و منجر به طعم تند در این گیاه می‌گردد. آلئوسین از جمله ترکیبات ناپایدار موجود در سیر است که فرار می‌باشد، به همین دلیل تاکید شده تا سیر را خام مصرف نمایند (۹). به علاوه فیتوآلکسین نیز از جمله ترکیبات غیرسولفوری و ناپایدار در سیر است که دارای ساختار اسکلتی گامیا پیرون بوده و دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و خواص ضد میکروبی و ضد توموری می‌باشد (۱۲). برخی ترکیبات موجود در سیر از جمله لکتینین (بیشترین پروتئین موجود در سیر)، پروستاگلاندین‌ها، فروکتان پکتین، ویتامین‌های B1، B6، C و E بیوتین، نیکوتیک اسید، اسیدهای چرب، گلیکولیپیدها، فسفولیپیدها و اسیدهای آمینه ضروری مورد بررسی قرار گرفته‌اند. اخیراً ترکیب ساپونین‌ها و ساپوگنین‌های استروئیدی مانند بتا کلروگنین نیز مورد

توجه قرار گرفته است (۲۰). سیر یک آنتی‌اکسیدان قوی است که برخی خواص آن دارای اثرات بازدارنده بر تصلب شریان می‌باشد. هم‌چنین با توجه به این که انرژی مورد نیاز جهت سنتز لیپیدی از طریق هیدروژن موجود در NADPH تامین می‌گردد، لذا ترکیبات موثر موجود در سیر از جمله اژنونین، آلئوسین، s-آلیل‌سیستین و دی‌آلیل‌دی‌سولفید منجر به اکسیداسیون NADPH به NADP شده و در نتیجه منجر به مهار سنتز لیپیدی و اثرات ضد آترواسکلروتیک می‌گردد (۳۲). سیر به سبب تاثیرات شبه پروستاگلاندین، منجر به کاهش مقاومت شریان گردیده و موجب طبیعی شدن فشارخون می‌شود (۸). هم‌چنین، تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت آنزیم PON1 در اثر تمرینات آزمودنی‌های انسانی و حیوانی تغییر می‌کند. در همین راستا، نشان داده شده که یک دوره برنامه تمرین هوازی منظم فعالیت PON1 در زنان میان‌سال را بهبود می‌بخشد (۲۱). با این وجود، عدم تغییر در سطح پاراکسوناز-۱ پس از تمرینات هوازی در موش‌های نژاد اسپراگودولی نیز گزارش شده است (۲۶). تاس و همکاران (۲۰۱۲) مقایسه تاثیر روش‌های تمرینات مختلف ورزشی را بر سطوح فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۱ را بررسی کردند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که آنزیم پاراکسوناز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان نقش حمایتی و محافظتی برای اکسیداسیون مارکر لیپیدی LDL دارد و از طرفی با افزایش تغییرات در ترکیبات HDL و LDL همراه بود (۳۰). اثرات پاتوفیزیولوژیکی فشارخون بالا مانند آسیب عملکرد سلولی و عدم تعادل بین عوامل منقبض‌کننده و شل‌کننده عروقی سبب تغییراتی در عروق خونی از جمله هیپرپلازی دیواره عروقی و تسریع اتروسکلروز می‌شود که در نتیجه به بیماری شریان کرونری منجر می‌گردد (۱۷). بنابراین درمان فشارخون بالا به منظور کاهش خطر ابتلا به

گرفتند و برای کم کردن اثر محرک های خارجی روی قفس حیوان با یک پارچه پوشانده شد. جهت بررسی فشار خون از اندازه گیری میزان نیترواکساید (NO) و آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۱ (ACE) Angiotensin converting enzyme) استفاده شد. پروتکل اجرا شده در این مطالعه بر مبنای دستورالعمل کمیته تحقیقات و اخلاق دانشکده فناوری های نوین پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران و بر اساس راهنمای مؤسسه ملی بهداشت، مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (NIH publications No. 80-23) در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی صورت گرفت. رت ها پس از یک دوره رژیم غذایی و تزریق ماده L_NAME به میزان ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن صبح ها به مدت ۸ هفته، ۶ روز در هفته به پرفشاری خون مبتلا شدند (۴). گروه های تجربی طی دوره مداخله مقدار مکمل سیر را به میزان ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوژ دریافت کردند (۱۳). عصاره سیر طبق روش استفاده شده توسط النقیب و همکاران تهیه گردید (۳). سیر تاز (سیر معروف همدان) خریداری شد. ابتدا پوست سیر گرفته شده و با آب مقطر شستشو، سپس به قطعات کوچکی برش داده و به ازای هر ۱۰۰ گرم سیر خرد شده ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید و با استفاده از مخلوط کن به خوبی مخلوط شدند. سپس مخلوط حاصل با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردیده و عصاره ی سیر به لوله های آزمایش انتقال داده شد و تا زمان استفاده در فریزر نگهداری شد. عصاره مورد نظر از طریق گاوژ به موش های صحرایی خوراندند. در پژوهش حاضر تردمیل مورد استفاده ۵ بانده می باشد. برنامه تمرینی رت ها برای مدت ۴۹ روز به تمرین دویدن پرداختند. بار تمرینی برای گروه های تمرین پس از آشنا سازی ۵ روزه در هفته اول و دوم ۲۰

بیماری های قلبی عروقی ضروری است. با توجه به شیوع بالای بیماری پر فشار خونی، از طرف دیگر برای کنترل و درمان این اختلال توسط مداخلات ورزشی تحقیقات کمی انجام گرفته است، هم چنین بسیاری از تحقیقات بر تأثیر راهکار غیر دارویی ورزش بر افراد مبتلا به پر فشار خونی که در معرض ابتلا به بیماری های قلبی و عروقی قرار دارند، تأکید دارند. بنابراین استفاده از ورزش با توجه به اثرات بالقوه مفید آن می تواند برای این امر مفید باشد. از طرفی، تأثیر فعالیت ورزشی بر سطوح PON1 در بیماران مبتلا به فشار خون بالا با یا بدون درمان مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر مصرف مکمل سیر بر سطوح پروتئین و بیان ژن پاراکسوناز-۱ بافت قلب در رت های ماده مبتلا به پرفشاری خون پس از یک دوره تمرین استقامتی می باشد.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر از نوع تجربی می باشد. جامعه آماری این پژوهش رت های ماده نژاد ویستار می باشد. برای انجام این تحقیق، تعداد ۳۰ سر رت ماده ویستار با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود انتخاب شدند. نمونه آماری این تحقیق، به روش نمونه گیری انتخابی هدف دار با توجه به شرایط وزنی و سنی انجام شد. پس از تعیین حجم نمونه، گروه ها بر این اساس به صورت تصادفی به ۶ گروه شامل کنترل سالم (۵ سر رت)، گروه شم (۵ سر رت)، گروه القاء فشار خون (هایپر) بدون مداخله (۵ سر رت)، گروه القاء فشار خون + عصاره سیر (۵ سر رت)، گروه القاء فشار خون + تمرین استقامتی (۵ سر رت)، گروه القاء فشار خون + عصاره سیر + تمرین استقامتی (۵ سر رت) تقسیم بندی شدند. حیوانات در شرایط تغذیه ای، دمایی و نوری یکسانی قرار گرفتند. بدین منظور حیوان در یک قفس ویژه مقید کردن (Restraint cage) قرار

نانوگرم بر میلی لیتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری بیان ژن پاراکسوناز-۱ بافت قلب با تکنیک - Real time PCR سنجش و پس از کمی سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول 2^{-ct} تجزیه و تحلیل شد. واکنش Q-PCR با استفاده از PCR master mix (Amplicon, Denmark) و SYBR Green در دستگاه (Applied Biosystems, Sequence ABI Step One Detection Systems. Foster City, CA) پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت (۲۷). به منظور طراحی پرایمرها، توالی‌های مربوطه از سایت NCBI گرفته شده است. پرایمر ژن‌های مدنظر و بتا اکتین توسط نرم افزارهای Allele ID و MEGA 6 طراحی و بررسی شد. اختصاصی بودن پرایمرها برای ژن‌های هدف به وسیله ی برنامه BLAST بررسی شد. در این مطالعه از ژن GAPDH به عنوان ژن مرجع استفاده شده است. توالی پرایمرهای استفاده شده به قرار زیر بوده است (جدول ۲). پس از کسب اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌های وزنی از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. بعد از این که طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص گردید، جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات سطح پروتئین و بیان ژن گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. تمام عملیات آماری پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد و سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

متر بر دقیقه، هفته سوم و چهارم ۲۵ متر بر دقیقه و هفته پنجم تا ششم ۳۰ متر بر دقیقه بود (جدول ۱) (۱۹). در پایان مطالعه، حیوانات به مدت ۱۲ ساعت ناشتا نگه داشته شدند. سپس رت‌های مورد مطالعه در هر گروه با تزریق درون صفاقی کتامین (۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش گردیدند. پس از بیهوشی با ثابت کردن حیوان روی تخته جراحی جوندگان، کالبد شکافی انجام شده و بلافاصله بافت قلب برداشته شد. نمونه-گیری بافت قلب از ۶ گروه پس از مداخله (گروه کنترل خونی پس از القاء پرفشار خونی در ابتدای تحقیق قربانی شدند) متغیرهای مستقل انجام و تغییرات پروتئین و بیان ژن پاراکسوناز-۱ بافت قلب آن‌ها مطالعه، سپس مورد مقایسه قرار گرفت. در شروع و پایان دوره قبل از کشتن و نمونه برداری، حیوانات به طور دقیق توسط ترازوی دیجیتال با حساسیت دو رقم اعشار وزن شده و اعداد به دست آمده بر حسب گرم ثبت شدند. در این تحقیق اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مد نظر قرار گرفت. همه آزمایشات بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد و توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی بررسی و تأیید گردید. سطح پروتئین پاراکسوناز-۱ با استفاده از کیت الایزا کمپانی biocompare محصول کشور امریکا با دامنه ۲۰-۳۱۲/۰ نانوگرم بر میلی لیتر و حساسیت ۰/۱۳

جدول ۱- برنامه تمرین استقامتی

زمان	آشناسازی ۵ روزه	هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳	هفته ۴	هفته ۵	هفته ۶
سرعت (متر در دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰
مدت (دقیقه)	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۵

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمرها	توالی
Pon-1	Forward	5'-GCTAGCACTCACCCCTCGTGG-3'
	Reverse	5'-CCGTCTCGATTCTTTAAC-3'
GAPDH	Forward	5'-TCCTCCTGAGCGCAAGTAC-3'
	Reverse	5'-CCTGCTTGCTGATCCACATCT-3'

نتایج

در جدول ۳ میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تفاوت معناداری بین میانگین وزن رت‌های ماده در گروه‌های مختلف پژوهش وجود ندارد ($p < 0.05$). برای سنجش بیان ژن PON-1 از بافت‌های مورد تحقیق استخراج total RNA انجام شده و برای بررسی کیفیت (شکل ۱) و کمیت (شکل ۲) آن به ترتیب از روش آگاروز ژل الکتروفورز و اسپکتروفتومتری استفاده شد. نتایج نشان داد که بین

میانگین میزان پروتئین PON-1 بافت قلبی رت‌های ماده مبتلا به پرفشاری خون در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت وجود ندارد ($p < 0.05$) (نمودار ۱). هم-چنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن PON-1 بافت قلبی رت‌های ماده مبتلا به پرفشاری خون در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت وجود ندارد ($p < 0.05$) (نمودار ۲). نمودار جذب تغییرات بیان ژن PON-1 در نمودار ۳ آورده شده است.

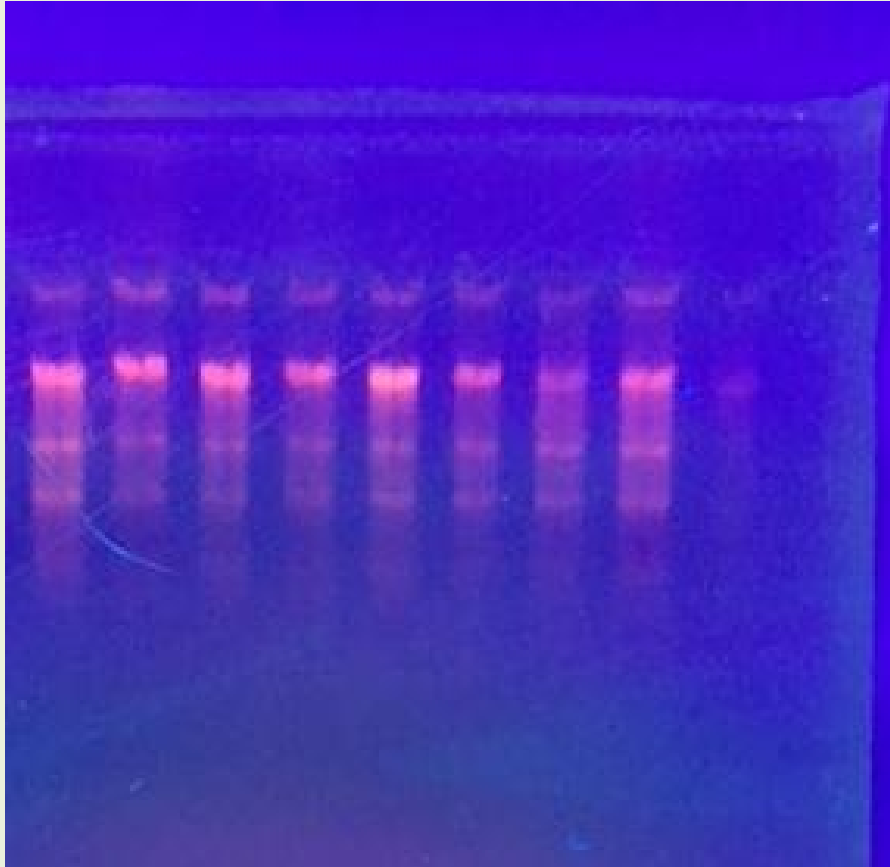
جدول ۳- میانگین و انحراف معیار تغییرات وزن در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	گروه	هفته اول	هفته ششم
وزن موش‌ها	کنترل سالم	۱۸۰/۰ ± ۱۴/۱	۱۸۲/۰ ± ۱۵/۵
	شم	۱۸۴/۲ ± ۳/۲	۱۸۵/۶ ± ۴/۹
	هایپر	۱۹۶/۰ ± ۲۵/۸	۱۹۱/۷ ± ۲۱/۷
	سیر	۱۹۲/۷ ± ۲۲/۴	۲۰۰/۲ ± ۲۳/۳
	تمرین	۲۰۱/۰ ± ۱۰/۲	۲۳۱/۲ ± ۴۸/۹
	سیر-تمرین	۱۹۷/۴ ± ۸/۱	۲۰۶/۴ ± ۸/۰

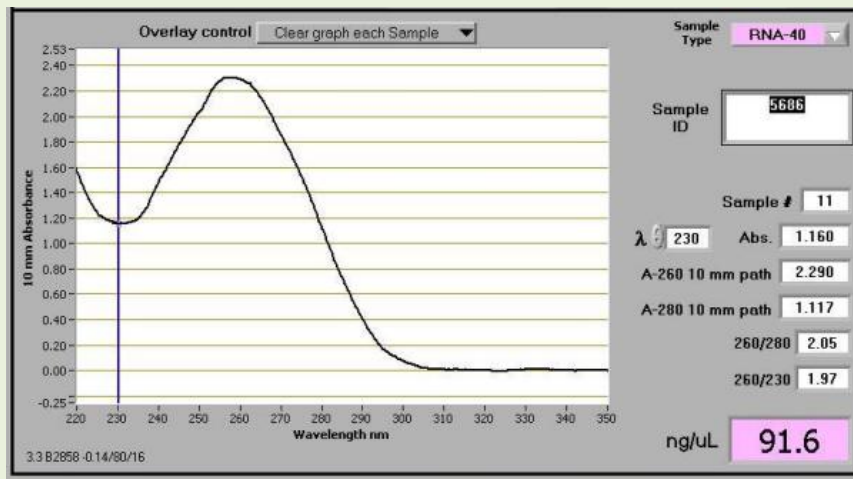
بحث و نتیجه گیری

یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد که شش هفته تمرین هوازی و مکمل سیر موجب ایجاد تغییرات معنادار در سطوح پروتئین و بیان ژن PON-1 بافت قلب رت‌های ماده مبتلا به پرفشاری خون در گروه‌های تجربی نسبت به گروه هایپر نمی‌شود. با توجه به نتایج فوق پژوهش حاضر نخستین تحقیقی است که به مطالعه تمرین هوازی بر میزان PON-1 بافت قلبی آزمودنی‌های مبتلا به پرفشاری خون پرداخته است. اطلاعات بسیار کمی درباره تاثیر تمرین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت قلب آزمودنی‌های مبتلا به پرفشاری خون موجود می‌باشد. مزایای تمرینات هوازی بر

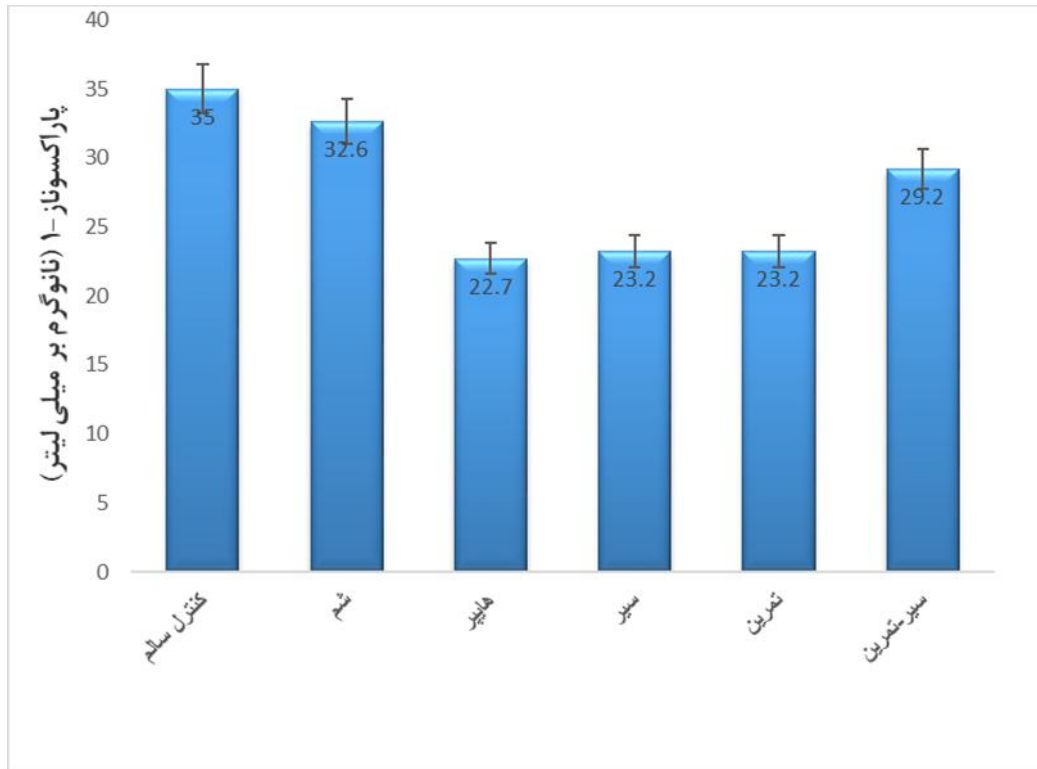
کاهش فشار خون در افراد مبتلا به فشار خون بالا در برخی تحقیقات مورد تایید قرار گرفته است (۲۳،۳۳). عدم تغییر سطوح پارکسوناز-۱ متعاقب تمرینات هوازی در تحقیق حاضر با یافته‌های مطالعات قبلی (۱۷،۳۰) هم‌خوان می‌باشد. به نظر می‌رسد تمرین هوازی منظم از طریق بالا بردن روند پراکسیداسیون چربی، که در واقع به کاهش PON1 می‌انجامد، موجب فشار اکسایشی می‌شوند و توسعه شرایط فشار اکسایشی، در تغییر فعالیت PON1 موثر است. در کل می‌توان اظهار داشت که ایجاد تغییر در فعالیت PON1، احتمالاً به تحریک وابسته به تمرین با شدت مناسب و طولانی مدت نیاز دارد.



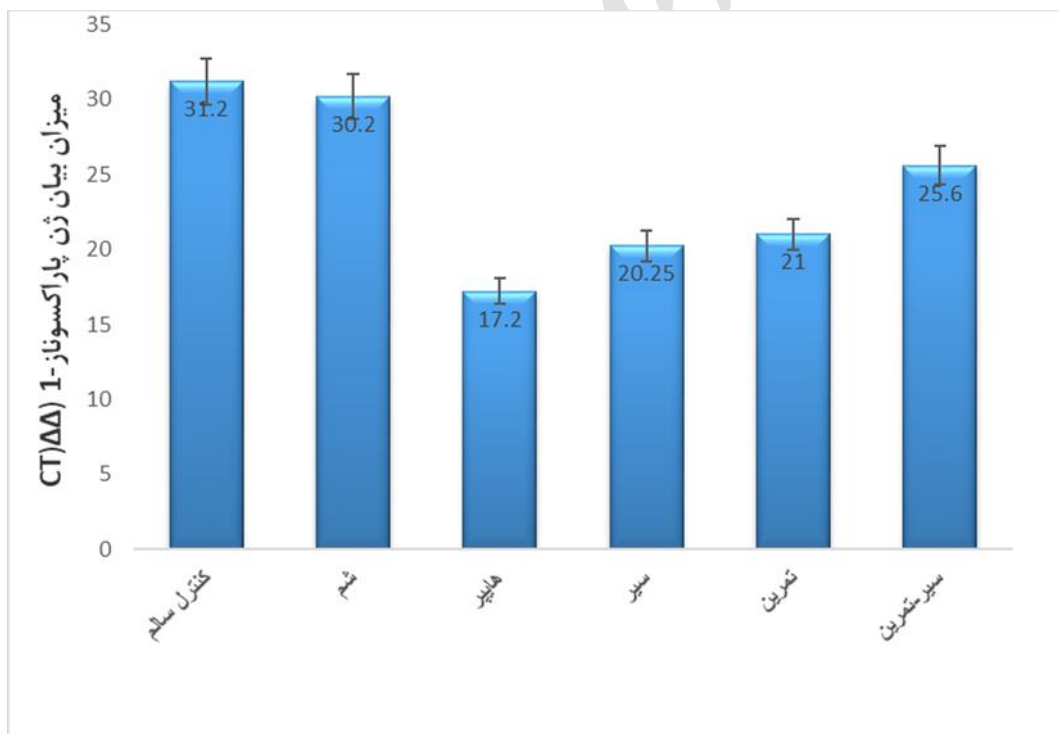
شکل ۱- تصویری از total RNA استخراج شده از بافت‌های قلب (بررسی کیفی). ستون‌های ۱ تا ۸ از راست به چپ مربوط به نمونه‌های متفاوت مورد بررسی است.



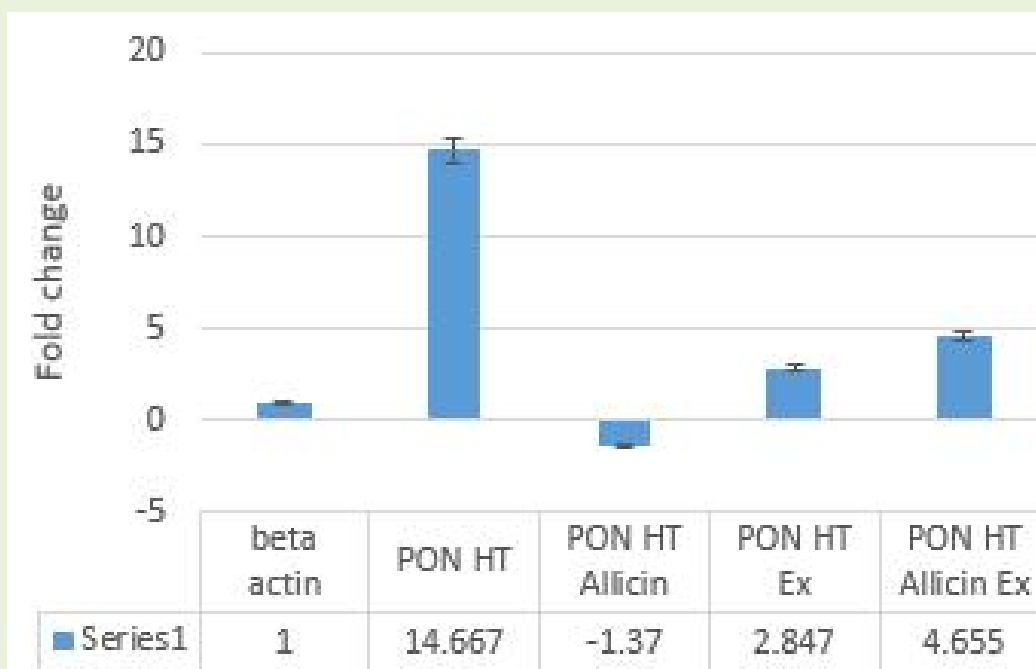
شکل ۲- تصویری از بررسی کمی total RNA استخراج شده از بافت‌های قلب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر



نمودار ۱- تغییرات میزان پروتئین PON-1 بافت قلبی در گروه های مختلف



نمودار ۲- تغییرات بیان ژن PON-1 بافت قلبی در گروه های مختلف



نمودار ۳- نمودار جذب تغییرات بیان ژن PON-1

کاستا و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه خود دریافتند که بعد از ۳ ماه فعالیت هوازی با شدت متوسط بر روی دوچرخه کارسنج، سطوح پاراکسوناز ۱ در ۳۰ آزمودنی چاق کم‌تحرک مبتلا به سندرم متابولیک افزایش معنی‌داری یافت (۱۱). بقایی و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان دادند مقادیر پاراکسوناز ۱ در مردان به دنبال ۱۲ هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط افزایش می‌یابد (۷). نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های بقایی و همکاران (۲۰۱۶)، نالکاکان و همکاران (۲۰۱۵)، گلدهامر و همکاران (۲۰۰۷) و ارسلان و همکاران (۲۰۰۲) هم‌خوان نمی‌باشد. از آنجایی که مکانسیم روشنی از عملکردهای پاراکسوناز-۱ و اثر فعالیت ورزشی به ویژه تمرین استقامتی هنوز به درستی مشخص نیست؛ توضیح نتایج متناقض تحقیقات به درستی امکان‌پذیر نیست. به طور کلی، دلایل عدم تغییرات معنادار در تحقیقات فوق نسبت به تحقیق حاضر می‌تواند به نوع آزمودنی‌ها و هم‌چنین نوع تمرین مربوط باشد. به طوری که آزمودنی‌های تحقیق حاضر را آزمودنی‌های حیوانی تشکیل دادند. علاوه بر این، در تحقیقات فوق از تمرینات با مدت طولانی‌تری

فعالیت بدنی منظم و طولانی احتمالاً موجب تقویت سیستم‌های بدن در برابر شرایط فشار اکسایشی شده و افزایش فعالیت PON1 به عنوان یک سازوکار احتمالی، که دارای اثر حمایت‌کنندگی در برابر آترواسکلروز است، به وقوع می‌پیوندد. با این وجود، برخی تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت آنزیم PON1 در اثر تمرینات در مردان و زنان تغییر می‌کند. در همین راستا، نالکاکان و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند یک دوره برنامه تمرین منظم فعالیت PON در زنان میان‌سال را افزایش می‌دهد (۲۱). طاهری چادرشین و همکاران (۱۳۹۶) نشان دادند هر دو تمرین استقامتی (با سرعت ۲۷ متر در دقیقه) و تمرین سرعت (با سرعت ۴۰ تا ۵۴ متر در دقیقه) روی تردمیل به مدت ۶ هفته، ۶ روز در هفته باعث افزایش فعالیت PON1 سرم شد (۲۹). گلدهامر و همکاران (۲۰۰۷) نیز افزایش معنی‌دار سطوح پاراکسوناز ۱ پلاسما متعاقب ۱۲ هفته تمرین در آزمودنی‌های مبتلا به بیماری عروق کرونری مشاهده نمودند (۱۴). ارسلان و همکاران (۲۰۰۲) افزایش سطوح پاراکسوناز را بعد از یک دوره فعالیت منظم گزارش کردند (۵). هم‌چنین در پژوهش‌های با نمونه‌های انسانی

های صحرایی نر بالغ به طور قابل توجهی افزایش استرس اکسیداتیو شامل کاهش کلسترول سرم و فعالیت پاراکسوناز ۱ سرم را نشان دادند. نتایج نشان داد که درمان خوراکی با عصاره سیر در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در روز به ازای هر کیلوگرم وزن بدن فعالیت POX1 را بهبود می بخشد و اختلال در عملکرد کبد و قلب را به صورت وابسته به دوز کاهش می دهد (۱). نتایج تحقیق حاضر با یافته فوق همخوان نمی باشد تفاوت یافته این تحقیق با نتایج فوق احتمالاً ناشی از تفاوت در دوز سیر و نوع آزمودنی ها باشد. در تحقیق حاضر با توجه به نوع بیماری و تحمل فشار ورزش دوز سیر کمتری برای آزمودنی ها در نظر گرفته شد. رشتچی زاده و همکاران (۱۳۸۹) نیز در تحقیقی به بررسی اثر ۷ روز تجویز عصاره آبی سیر به میزان ۳ میلی لیتر بر فعالیت آنزیم PON موش های صحرایی نر پرداختند. نتایج حاکی از افزایش معنی دار فعالیت آنزیمی پاراکسوناز و آنتی اکسیدانت تام سرمی بود (۲۴). تفاوت یافته این تحقیق با نتایج فوق احتمالاً ناشی از تفاوت در نوع آزمودنی ها باشد. در تحقیق فوق نمونه های سالم و رت های ماده مبتلا به پرفشاری خون مورد بررسی قرار گرفتند. همان طور که مشاهده می شود زمان تیمار در مطالعات مختلف، متفاوت می باشد بنابراین احتمالاً مدت دوره درمان می تواند دلیل تناقض نتایج مطالعات باشد. در همین راستا، اشرف و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند مکمل سیر به روش وابسته به دوز و مدت تجویز موجب بهبود اثرات بر فشار خون در بیماران مبتلا به فشارخون می شود (۶). بنابراین احتمال دارد با تغییر دوز مصرفی مکمل سیر و همچنین افزایش مدت مداخله حاضر بتوان به نتایج روش تری دست یافت. مطالعات بیشتری برای شناسایی سازوکارهای کاهش فشار خون به دنبال مصرف سیر مورد نیاز است. در مجموع، مطالعات بیشتری برای

نسبت به تحقیق حاضر استفاده شده بود. علاوه بر این، نتایج تحقیق حاضر نشان داد مکمل سیر بر سطوح پروتئین و بیان ژن PON-1 بافت قلب رت های ماده مبتلا به پرفشاری خون اثر معنی داری نداشت. مزایای مکمل سیر بر کاهش فشار خون در افراد مبتلا به فشار خون بالا در تحقیقات بسیاری مورد تایید قرار گرفته است. افخمی اردکانی و کمالی اردکانی (۱۳۸۷) نشان دادند ۴ هفته تحت درمان با قرص گارسین روزی سه عدد موجب کاهش فشار خون سیستولیک و دیاستولیک بیماران دیابتی نوع ۲ گردید (۲). راید و همکاران (۲۰۱۶) نیز بیان کردند عصاره سیر در کاهش فشار خون محیطی و مرکزی بیماران مبتلا به فشار خون بالا تاثیر دارد و می تواند باعث بهبود سفتی شریان، التهاب و سایر نشانگرهای قلبی عروقی در بیماران با سطوح بالای عوامل خطرزا شود (۲۵). مطالعات نشان می دهد که نیتریک اکسید نقش مهمی در گشاد شدن رگ ها ایفا می کند که می تواند عملکردهای فیزیولوژیکی سیستم قلبی عروقی را کنترل کند. آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز در بیوسنتز نیتریک اکسید دخیل است. مصرف سیر به واسطه جلوگیری از سنتز نیتریک اکسید از افزایش فشار خون جلوگیری می کند (۱۰). از طرفی دیگر برخی مطالعات نشان می دهند که ممکن است سیر منجر به القا NO و سنتز سولفید هیدروژن گردد که می تواند اثرات غیر مستقیمی در گشاد کردن رگ ها داشته باشد. بنابراین سیر یک تعدیل کننده و تنظیم کننده فشار خون است (۱۸). همچنین نشان داده شده است که عصاره سیر موجب بهبود استرس اکسیداتیو و افزایش سطوح فعالیت پاراکسوناز ۱ می شود. در همین راستا، عبدل وهاب و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی به بررسی اثر عصاره سیر (دو بار در هفته، به مدت ۴ هفته) بر پاراکسوناز ۱ سرم در موش های صحرایی نر بالغ پرداختند. موش

معنی داری نداشت. با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد که کافی نبودن دوره ورزش (تواتر و شدت تمرینات) و میزان مکمل سیر می‌توانند از جمله علل احتمالی عدم اثربخشی در مداخله حاضر باشند. با توجه مطالعات اندک انجام شده در این رابطه، تحقیق روی اثر فعالیت ورزشی و مکمل سیر بر عوامل درگیر در پرفشار خونی نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه ی افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع: نویسندگان مقاله اعلام می‌کنند که هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

1. Abdel-Wahhab, K.E., Khadrawy, Y.A., Mannaa, F.A. (2012). Aged garlic extract enhances paraoxonase 1 activity and suppress oxidative stress in CCl₄ - Intoxicated rats Elwahid. *Comunicata Scientiae; Bom Jesus*, 3(1); 55-63.
2. Afkhami Ardakani, M., Kamali ardakani, A. (2008). Effect of garlic on blood pressure in type 2 diabetes. *Daneshvar Medicine*, 16(77); 1-6.
3. Alnaqeeb, M.A., Thomson, M., Bordia, T., Ali, M. (1996). Histopathological effects of garlic on liver and lung of rats. *Toxicol Lett*, 85(3); 157-64.
4. Altoama, K., Mallem, M.Y., Thorin, C., Betti, E., Desfontis, J.C. (2016). Effect of nebivolol treatment during pregnancy on the intrauterine fetal growth, mortality and pup postnatal development in the l-NAME-induced hypertensive rats. *Eur J Pharmacol*, 791; 465-72.
5. Arslan, C., Gulcu, F., Gursu, M.F. (2002). Effects of oxidation stress caused hyacute and chronic exercise on levels of serum metabolities, paraoxonase and arylesterase activities. Meeting of the Federation of European Biochemical Ocieties, 2; 20-25
6. Ashraf, R., Khan, R.A., Ashraf, I., Qureshi, A.A. (2013). Effects of *Allium sativum* (garlic) on systolic and diastolic blood pressure in

- شناسایی سازوکارهای تاثیر مکمل گیری دارو درمانی به همراه ورزش بر میزان بیان ژن PON-1 طی پرفشاری خون مورد نیاز است. در مطالعه حاضر سطوح ROS و عوامل التهابی اندازه گیری نشده است علاوه بر این، عدم تحت کنترل قرار گرفتن رژیم غذایی (اندازه-گیری انرژی دریافتی و مصرفی) از جمله محدودیت-های تحقیق حاضر می باشد. در نهایت، با توجه به نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که در تحقیقی مشابه تاثیر مهارکننده‌ها و تحریک کننده‌های PON-1 نیز مورد بررسی قرار گیرد. به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد مصرف مکمل سیر بر سطوح پروتئین و بیان ژن PON-1 بافت قلب در رت های ماده مبتلا به پرفشاری خون پس از یک دوره تمرین استقامتی اثر patients with essential hypertension. *Pak J Pharm Sci*, 26(5); 859-63.
7. Baghaiee, B., Siahkuhian, M., Hakimi, M., Bolboli, L., Ahmadi Dehrashid, K. (2016). The Effect paraoxonase-1, hydrogen peroxide and adiponectin changes on systolic and diastolic blood pressure of men's with high blood pressure following to 12 week moderate aerobic exercise. *J Shahrekord Univ Med Sci*, 18 (1); 81-92.
 8. Bayan, L., Koulivand, P.H., Gorji, A. (2014). Garlic: A review of potential therapeutic effects. *Avicenna J Phytomed*, 4(1); 1-14.
 9. Block, E. (2010). *Garlic and other Alliums: the lore and the science*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
 10. Cardelle-Cobas, A., Soria, A.C., Corzo, N., Villamiel, M. (2010). *A comprehensive survey of garlic functionality*. Madrid: Nova Science Publisher.
 11. Costa, L.G., Vitalone, A., Cole, T.B., Furlong, C.E. (2005). Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochemical pharmacology*, 69(4); 541-550.
 12. Fleischauer, A.T., Arab, L. (2001). Garlic and cancer: a critical review of the epidemiologic literature. *J Nutr*, 131(3); 1032-1040.
 13. Ghaforian Borojerdnia, M. (2001). A histopathological study of effects of intraperitoneal garlic extract on liver in rats. *Avicenna J Clin Med*, 8(3); 18-27.

14. Goldhammer, E., Ben-Sira, D., Zaid, G., Biniamini, Y., Maor, I., Lanir, A. (2007). Paraoxonase activity following exercise-based cardiac rehabilitation program. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention*, 27(3); 151-154.
15. Kjeldsen, S.E. (2018). Hypertension and cardiovascular risk: General aspects. *Pharmacol Res*, 129; 95-99.
16. Konukoglu, D., Firtina, S., Serin, O., Cavusoglu, C. (2009). Relationship among plasma secretory phospholipase A₂, oxidized low density lipoprotein & paraoxonase activities in hypertensive subjects treated with angiotensin converting enzyme inhibitors. *Indian J Med Res*, 129; 390-394.
17. Leuzzi, C., Marzullo, R., Modena, M.G. (2012). Is menopause a risk factor for ischemic heart disease in women? *G Ital Cardiol (Rome)*, 13; 401-6.
18. Liu, L., Yeh, YY. (2002). S-alk(en)yl cysteines of garlic inhibit cholesterol synthesis by deactivating HMG-CoA reductase in cultured rat hepatocytes. *J Nutr*, 132(6); 1129-1134.
19. Monazzami, A.A., Rajabi, H., Gharakhanlou, R. (2013). The effect of endurance training on the protein content of sodium bicarbonate and sodium-hydrogen exchanger in skeletal muscle of rat. *Olympic-journal*, 20(4); 61-74.
20. Mousavi, T., Rafiei, A., Amjadi, O., Yoosefpoor, M., Zakavi, A. (2015). Medicinal and nutritional properties of grapes in Islamic references, traditional, and modern medicine. *J Mazandaran Univ Med Sci*, 25(130); 169-190.
21. Nalcakan, G.R., Rana Varol, S., Turgay, F., Nalcakan, M., Zeki, OM. (2015). Effects of aerobic training on serum paraoxonase activity and its relationship with PON1-192 phenotypes in women. *Journal of Sport and Health Science*, 1-7.
22. Paravicini, T.M., Touyz, R.M. (2008). NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care*, 31(2); 170-S180.
23. Pouladi Borj, B., Boghrabadi, V., Hejazi, S.M. (2015). Comparison of the effect of aerobic training exercise and different intensities on duration of post-exercise hypotension in middle-aged women. *RJMS*, 22 (134); 18-27.
24. Rashtchizadeh, N., Ghorbanhaghjo, A., Mir Momeni, M.M., Ghari Ghoran, M., Hashemzadeh, J. (2010). Effects of aqueous garlic extract on paraoxonase and arylesterase activity in rats. *J Urmia Univ Med Sci*, 21(2); 260-266.
25. Ried, K., Fakler, P. (2014). Potential of garlic (*Allium sativum*) in lowering high blood pressure: mechanisms of action and clinical relevance *Integr Blood Press Control*, 7; 71-82.
26. Romani, R., De Medio, G.E., Di Tullio, S., Lapalombella, R., Pirisinu, I., Margonato, V. (2009). Modulation of paraoxonase 1 and 3 expression after moderate exercise training in the rat. *Journal of lipid research*, 50(10); 2036-2045.
27. Saunders NA, Lee MA. (2013). Real time PCR: Advanced Technologies and Applications, Caister Academic Press.
28. Spirou, A., Rizos, E., Liberopoulos, E.N., Kolaitis, N., Achimastos, A., Tselepis, A.D. (2006). Effect of barnidipine on blood pressure and serum metabolic parameters in patients with essential hypertension: a pilot study. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 11; 256-61.
29. Taheri Chadorneshin, H., Abtahi-Eivary, S.H., Yaghoubi, A., Ajam-Zibad, M. (2017). The effect of exercise training type on paraoxonase-1 and lipid profile in rats. *Shiraz E-Med J, Inpress(Inpress)*; 46131.
30. Tas, M., Zorba, E., Yaman, M. (2012). Comparison of the effects of different training methods on arylesterase activity and paraxonase activity levels in hot environment. *TOJRAS: The Online Journal of Recreation and Sport*, 1(1); 1-8.
31. Tomita, H., Egashira, K., Kubo-Inoue, M., Usui, M., Koyanagi, H., Shimokawa, M. (1998). Inhibition of NO synthases induces inflammatory changes and monocyte chemoattractant protein-1 expression in rat hearts and vessels. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 18; 1456-1464.
32. Yeh, YY., Liu, L. (2001). Cholesterol-lowering effect of garlic extracts and organosulfur compounds: human and animal studies. *J Nutr*, 131(3); 989-993.
33. Zhang, Y., Yan, F., Bin, Z., Chuikun, L., Xueling, L. (2017). Effect of Tai Chi exercise for hypertension: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BIO Web of Conferences*, 8; 10-22.

The Effect of Garlic Supplementation on Protein levels and Gene expression of PON1 at the Heart tissue in Female rats with hypertension After a period of endurance training

M.Karimi zad komarej¹, **A. Abbassi Daloi**², A Barari³, S. J. Ziaolhagh⁴

1 Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran.

2 Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran.

abbasi.daloi@gmail.com

3 Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran

4 Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Shahrood Branch, Shahrood, Iran

Received:2019.4.4

Accepted: 2019.31.5

Abstract

Introduction & Objective: Oxidative stress which is responsible for pathophysiology of hypertension, causes decrease in total antioxidant capacity. PON 1 is an antioxidant enzyme present on the surface of HDL also which is responsible for prevention of HTN and it's complications. The aim of this study was to investigate the Effect of Isosorbide and Garlic Supplementation on Protein levels and Gene expression of PON1 at the Heart tissue in Female rats with hypertension After a period of aerobic training.

Materials and Methods: In the experimental study, 30 female Wistar rats weighing 180-220 g were randomly divided into 8 groups: healthy control, sham, blood pressure induction (Hyper), garlic, endurance training, endurance training -garlic. The rats suffered from hypertension of 6 days a week for 8 weeks after dietary period and 10 mg/kg body weight L_NAME injection. Experimental groups received 50 mg/kg body weight garlic supplement for six weeks. The endurance training program was performed at speeds of 20-30 m/min and 20 to 35 minutes, 5 sessions per week for 6 weeks. Protein levels and expression of PON1 heart tissue were measured using ELISA kit and Real Time PCR. Data were analyzed by t-test, One-way ANOVA and post hoc tokey at the significant level $P < 0.05$.

Results: The results showed that there was no significant difference between the mean protein and the expression of paraoxonase-1 in the heart tissue of the female rats with hypertension in the different groups of the study ($P > 0.05$). Also, there was no difference between the levels of protein paraoxonase-1 heart tissue in different groups than the group of blood pressure induction ($P > 0.05$).

Conclusion: According to the findings, it seems to that the inadequacy of the training period (frequency and intensity of exercise) and the dose rate of Garlic Supplementation can be one of the possible causes of ineffectiveness in the present study.

Keywords: *Exercise, Garlic, Hypertension, PON1, Female rats.*