

## اثر ترکیبی تمرین شنا و عصاره سیر بر برخی از عوامل میانجی گر در آنژیوژنز و فیبروزیس قلبی موش‌های پیر

نویسندگان:

معصومه حبیبیان<sup>۱\*</sup>، محمدعلی اسدی<sup>۲</sup>

۱- گروه تربیت‌بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزش دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 13, No.4, Winter 2016

## چکیده:

**مقدمه:** پیری یک عامل خطرزای مهم برای آسیب تدریجی ساختار و عملکرد قلبی است که با تغییرات متفاوتی در آنژیوژنز و فیبروزیس قلبی همراه است. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر ترکیبی تمرین شنا و عصاره سیر بر مقادیر برخی از عوامل رشد میانجی گر در آنژیوژنز و فیبروزیس قلبی موش‌های صحرایی پیر بود.

**روش کار:** ۳۵ سر موش صحرایی نر ویستار پیر به صورت تصادفی به پنج گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل، گروه سالین، گروه تمرین هوازی، گروه سیر و گروه تمرین هوازی + سیر تقسیم شدند. حیوانات با تمرین شنا به مدت ۶۰ دقیقه در روز، ۳ روز در هفته و به مدت ۸ هفته ورزش داده شدند. گروه‌های تمرین هوازی و تمرین هوازی + سیر با عصاره سیر به مقدار ۲/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن تیمار شدند. مقادیر فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و فاکتور تبدیل رشد بتا ۱- (TGF-β1) در تمام گروه‌ها قبل و بعد از مداخله اندازه‌گیری شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای آنالیز داده‌ها استفاده شد.  $p < 0.05$  به عنوان سطح معناداری آماری در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد هشت هفته تمرین شنا، مصرف مکمل سیر و ترکیبی از دو مداخله با افزایش معناداری در مقدار VEGF قلبی و کاهش TGF-β1 موش‌های پیر همراه بود ( $p < 0.05$ )، اما تفاوت معناداری بین اثرات این مداخله‌ها بر مقادیر TGF-β1 و VEGF قلبی در موش‌های پیر مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد هر یک از مداخله‌های غیر داروی تمرین منظم، عصاره سیر و ترکیبی از این دو شیوه ممکن است تغییرات آنژیوژنز و فیبروزیس قلبی ناشی از پیری را به واسطه تنظیم مثبت VEGF و تقلیل میزان TGF-β1 کاهش دهد.

واژگان کلیدی: پیری، آنژیوژنز، قلب، فیبروزیس، تمرین

Par J Med Sci 2015;13(4):39-46

## مقدمه:

افزایش سن یا پیری با افزایش بروز بیماری‌های قلبی-عروقی از جمله حملات قلبی [۱] و کاهش تحمل ایسکمی همراه است [۲]. اختلال در رگ زایی یا آنژیوژنز به‌طور مکرر در سلول‌ها و بافت‌های پیر رخ می‌دهد، به‌طوری‌که کاهش آنژیوژنز در افراد پیر با افزایش بروز انفارکتوس قلبی و سایر بیماری‌های قلبی-عروقی [۳]، اختلال در تغییر ساختاری شبکه عروقی بافت‌های دچار ایسکمی و کاهش بهبودی در بافت آسیب‌دیده همراه است [۴، ۵]. فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) قوی‌ترین

محرك برای آنژیوژنز است [۳] که تکثیر و تمایز سلولی اندوتلیال را تحریک کرده و نفوذپذیری عروقی را افزایش می‌دهد. همچنین اتساع عروقی وابسته به اندوتلیوم را میانجی‌گری کرده و از بقا عروقی از طریق مهار آپوپتوز اندوتلیال حمایت می‌کند [۶]. تنظیم منفی VEGF یکی از عوامل مهم در آسیب آنژیوژنز ناشی از افزایش سن شناخته‌شده است [۴، ۵]. در میوسیت‌های قلبی، مقدار VEGF با افزایش سن کاهش می‌یابد [۷]. از سوی دیگر، پیر شدن قلب با تغییرات

\* نویسنده مسئول، نشانی: قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، دانشکده علوم انسانی

پست الکترونیک: habibian\_m@yahoo.com

تلفن تماس: ۰۹۱۱۱۲۸۵۷۲۶

پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۷

اصلاح: ۹۴/۱۲/۸

دریافت: ۹۴/۸/۳۰

۵. [۸] و نقش حمایتی فعالیت‌های ورزشی [۱۴، ۱۵] و گیاه سیر [۲۰، ۲۱] در مقابل بیماری‌های قلبی عروقی و همچنین کاستن خطر آترواسکلروز، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر ترکیبی تمرین منظم شنا و عصاره سیر بر مقادیر برخی از فاکتورهای رشد مداخله‌گر در آنژیوژنز و فیبروژنز قلبی موش‌های صحرایی پیر انجام شد.

### روش کار:

مطالعه تجربی حاضر با طرح پژوهشی پس‌آزمون همراه با گروه کنترل، روی ۳۵ موش صحرایی نر بالغ پیر ۴۸ تا ۵۰ هفته‌ای (بیش از یک سال) نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم انجام شد. حیوانات پرورش داده‌شده، پس از انتقال به محیط جدید با اختلاف وزنی حدود ۱۰ گرم در قفس مختلف به صورت مقدماتی دسته‌بندی شدند. سپس برای تعیین گروه‌های تجربی و کنترل، از موش‌های موجود در هر یک از قفس‌ها (با مقادیر وزنی نزدیک به هم) به صورت تصادفی یک نمونه انتخاب و در یکی از گروه‌های کنترل، سالیین، تمرین هوازی، سیر و تمرین هوازی+ سیر قرار داده شدند (هفت موش در هر گروه). در طول تحقیق حیوانات در قفس‌هایی از جنس پلی کربنات شفاف به ابعاد  $۱۵ \times ۲۶/۵ \times ۴۲$  سانتی‌متر، دمای  $22 \pm 2$  درجه سلسیوس، رطوبت  $55 \pm 5$  درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب نگهداری شدند و به آب و غذای پلت (ساخت شرکت به پرور کرج) آزادانه دسترسی داشتند. کلیه مراحل تحقیق با رعایت دستورالعمل سازمانی در خصوص مراقبت و استفاده از حیوانات و با تأیید کمیته اخلاق با مجوز شماره ۱۳۰۴۹۳۲۰۱۳ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری انجام شد.

### پروتکل تمرینی:

به‌منظور آشنایی با آب، آزمودنی‌های گروه‌های تمرینی یک هفته قبل از شروع پروتکل اصلی به مدت پنج دقیقه در روز و پنج روز در هفته تمرین داده شدند. برنامه تمرینی اصلی شامل ۶۰ دقیقه شنا کردن در تانکر ویژه جوندگان، ۳ روز در هفته و به مدت ۸ هفته بود که در ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح انجام می‌شد [۲۲]. پنج دقیقه قبل و بعد از تمرین به ترتیب برای گرم و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد. دمای آب برای شنا کردن نیز  $2 \pm 32$  درجه سلسیوس بود. پس از انجام تمرینات شنا در هر جلسه حیوانات با قرار گرفتن در معرض جریان هوای گرم با استفاده از گرماساز مخصوص جوندگان خشک می‌شدند.

### تهیه عصاره سیر:

مورفولوژیکی و ساختاری همراه است که می‌تواند منجر به کاهش عملکرد قلبی، هیپرتروفی بطن چپ و در نتیجه نارسایی قلبی شود [۸]؛ بنابراین افزایش سن نقش مهمی در فیبروزیس قلبی ایفا می‌کند [۹]. در سیستم قلبی- عروقی رسوب وابسته به سن و فزاینده کلاژن در دیواره عروق، فضای بینابینی و دور عروقی قلبی منجر به کاهش کمپلانس قلبی و شریانی می‌شود [۸]. فاکتور تبدیل رشد بتا  $1-\text{TGF-}\beta$  محرک قوی برای سنتز کلاژن است [۱۰] و به‌عنوان یک سایتوکاین چندمنظوره، نقش مهمی در مهاجرت سلولی تکثیر، تمایز، آپوپتوز و تولید پروتئین ماتریکس خارج سلولی ایفا می‌کند [۱۱]. مسیر سیگنالینگ  $\text{TGF-}\beta$  یک سیستم تنظیم مرکزی در فیبروژنز قلبی است و ممکن است مسیر پروآنژیوژنز را نیز به‌طور مثبت تنظیم کند [۹]. علاوه بر این،  $\text{TGF-}\beta$  دارای اثرات هیپرتروفیک در قلب و تعدیل عملکرد سلول‌های التهابی است [۸]. در مطالعات قبلی بیان اضافی  $\text{TGF-}\beta$  در قلب موش‌های ترانس ژنیک همراه با هیپرتروفی و فیبروزیس قلبی [۱۲] و همچنین مقادیر قابل توجه  $\text{TGF-}\beta$  و فیبروزیس دهلیزی افراد پیر در مقایسه با افراد جوان‌تر [۱۳] گزارش شده است؛ بنابراین یافتن شیوه‌های جدید برای کاهش فیبروزیس و افزایش آنژیوژنز در بافت قلب افراد پیر، مهم و ضروری است [۳].

ورزش‌های هوازی مداوم اولین خط درمانی برای کاهش خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر با پیری محسوب می‌شوند، به‌طوری‌که سفتی کمتر شریان الاستیک بزرگ در بزرگسالان میان‌سال و مسن‌تر که به‌طور منظم ورزش‌های هوازی انجام می‌دهند، در مقایسه افراد غیرفعال مشاهده شده است [۱۴، ۱۵]. به اعتقاد محققین، فعالیت ورزشی تنظیم منفی آبشار سیگنالینگ آنژیوژنیک قلبی و کاهش چگالی مویرگی ناشی از پیری را بهبود می‌بخشد [۴]، به‌طوری‌که افزایش بیان پروتئین و  $\text{VEGF mRNA}$  در موش‌های جوان تمرین کرده [۱۶] و کاهش بیان  $\text{TGF-}\beta$  سختی شریان کاروتیدی موش‌های کوچک مسن [۱۷] مشاهده می‌شود. باین‌وجود، تأثیر فعالیت ورزشی شنا بر سطوح شاخص‌های مؤثر در فیبروز و آنژیوژنز ( $\text{TGF-}\beta$  و  $\text{VEGF}$ ) قلب پیر بسیار محدود است. از سوی دیگر، سیر و فراورده‌های تهیه‌شده از آن به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان یک روش غیر دارویی برای پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی- عروقی شناخته‌شده است [۱۸، ۱۹]. نتایج هر دو مطالعات تجربی و بالینی نشان می‌دهد که سیر دارای اثرات مطلوب بر سیستم قلبی- عروقی است [۲۰]. همچنین مشاهده شده است که مصرف عصاره سیر با کاهش اختلال عملکرد دیاستولی و فیبروزیس قلبی همراه است [۲۱]. از این‌رو با توجه به تغییرات فرآیندهای فیبروزیس و آنژیوژنز قلبی ناشی از افزایش سن [۴]

برای تعیین محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ در سطح معناداری  $P < 0/05$  انجام شد.

### یافته‌ها:

نتایج آزمون شاپیر-ویلک و آزمون لوین ( $P=0/485$ ) برای VEGF و  $P=0/417$  برای TGF- $\beta 1$ ) به ترتیب دلالت بر توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها داشت. با توجه به ارزش F محاسبه شده (به ترتیب ۸/۹۵۵ و ۷/۵۳۹) حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه، تفاوت معناداری بین میانگین‌های مقادیر VEGF و TGF- $\beta 1$  قلبی موش‌های پیر پس از هشت هفته مشاهده شد. همچنین یافته‌های حاصل از آزمون تعقیبی توکی نشان داد که پس از هشت هفته میزان VEGF قلبی در موش‌های گروه‌های تمرین، سیر و سیر+تمرین (به ترتیب  $48/98 \pm 57/14$ ،  $40/28 \pm 56/0$  و  $36/73 \pm 596/14$  نانوگرم بر گرم پروتئین) در مقایسه با گروه کنترل ( $43/94 \pm 482/43$  نانوگرم بر گرم پروتئین) به‌طور معناداری افزایش (به ترتیب  $19/60\%$ ،  $P=0/005$ ،  $24/15\%$ ،  $P=0/041$  و  $23/54\%$ ؛  $P=0/001$ ؛ شکل ۱) یافته بود.

اما به‌طور معکوسی هشت هفته تمرین شنا، مصرف مکمل سیر و ترکیبی از این دو مداخله با کاهش معنادار مقدار TGF- $\beta 1$  (به ترتیب  $48/82 \pm 323/28$ ،  $38/95 \pm 336/71$  و  $58/11 \pm 305/0$  پیکوگرم بر میلی‌گرم پروتئین) در مقایسه با گروه کنترل ( $46/43 \pm 406/43$  پیکوگرم بر میلی‌گرم پروتئین) در موش‌های مسن همراه بود (به ترتیب  $20/46\%$ ،  $P=0/011$ ،  $17/15\%$ ،  $P=0/043$  و  $24/95\%$ ؛  $P=0/001$ ؛ شکل ۲). علاوه بر این، اختلاف معناداری بین تأثیر مداخله‌های تمرین، مکمل سیر و ترکیبی بر افزایش VEGF و یا کاهش TGF- $\beta 1$  در موش‌های پیر مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

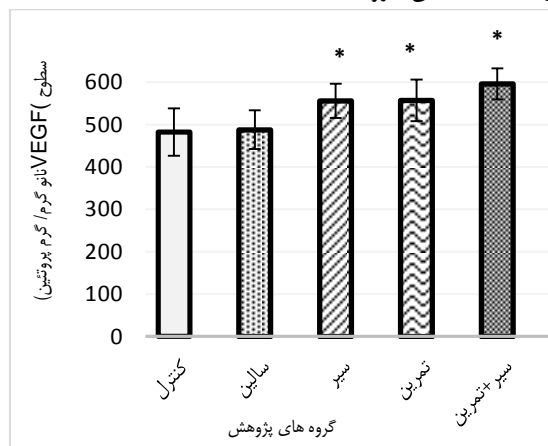
سیر کهنه پس از تمیز و خرد (له) شدن در دما و رطوبت معمولی به مدت سه ماه نگهداری شده و به روش ماسراسیون عصاره‌گیری شد. به‌طور خلاصه جهت عصاره‌گیری، پس از مخلوط ۵۰ گرم از سیر خردشده با متانول به نسبت ۱ به ۳، محلول حاصل پس از ۲۴ ساعت توسط کاغذ صافی و قیف بوختر صاف شد. سپس محلول صاف‌شده در دستگاه تقطیر در خلأ در دمای ۵۰ درجه سلسیوس تا زمانی که حجم باقی‌مانده به یک‌پنجم حجم اولیه برسد تقطیر شد. سپس محلول حاصل بعد از سه مرتبه دکانته کردن با ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم، در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در دستگاه آون خشک شد. عصاره پودر شده با آب مقطر مخلوط و به میزان ۲/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به گروه‌های مکمل و تمرین مکمل گاوآژ شد [۲۳]. گروه سالیین هم به همان میزان گروه مکمل با سالیین گاوآژ شد.

### بافت‌برداری و هموژنیزه:

۷۲ ساعت بعد از آخرین مداخله‌ها، حیوانات با استفاده از تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش و سپس فدا شدند. پس از شکافتن حفره سینه‌ای بافت قلب به‌دقت جدا و تا زمان بررسی‌های آزمایشگاهی در دمای  $-70^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس نگهداری شد. پس از هموژنیزه کردن بافت قلبی در سالیین بافرشده با فسفات، سنجش سطوح VEGF و TGF- $\beta 1$  با استفاده از روش الایزا و کیت‌های ویژه به ترتیب با حساسیت کمتر از  $5/01$  نانوگرم بر لیتر و  $2/1$  پیکوگرم بر میلی‌لیتر انجام شد.

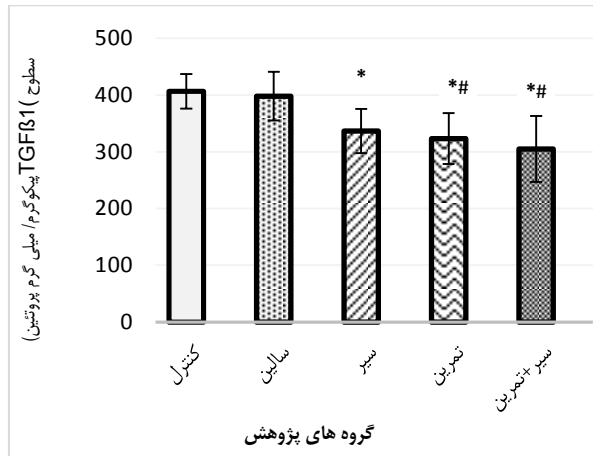
### تجزیه و تحلیل‌های آماری:

برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و تجانس واریانس‌ها به ترتیب از آزمون‌های شاپیر-ویلک و لوین استفاده شد. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه انجام شد و در صورت معناداری اختلاف بین گروه‌ها،



شکل ۱: مقایسه مقادیر VEGF قلبی در گروه‌های مختلف پژوهش

\*: معناداری تفاوت نسبت به گروه‌های کنترل و سالین. داده‌ها بر اساس میانگین و انحراف معیار است.



شکل ۲: مقایسه مقادیر TGF-β1 در گروه‌های مختلف پژوهش

\*: معناداری تفاوت نسبت به گروه‌های کنترل و سالین؛ # معناداری اختلاف نسبت به گروه سالین. داده‌ها بر اساس میانگین و انحراف معیار است.

## بحث:

TGF-β1 در بافت بطن چپ موش‌های پیر ۳۱ ماهه، متعاقب دوازده هفته تمرین به مدت ۴۵ دقیقه در هر جلسه و پنج روز در هفته [۲۸] توسط محققین دیگر گزارش شده است. علاوه بر این، فلیبر و همکاران نشان دادند که ۱۰ تا ۱۴ هفته فعالیت ورزشی روی چرخ دوار با شدت متوسط، سختی افزایش یافته در شریان کاروتیدی موش‌های پیر را معکوس کرده و منجر به کاهش کلاژن I و III، بیان TGF-β1 می‌شود، درحالی‌که بر موش‌های جوان تأثیری ندارد [۱۷]، اما عدم تغییر در بیان پروتئینی TGF-β1 بافت قلبی موش‌های نر جوان نژاد ویستار متعاقب هشت هفته تمرین دویدن روی نوار گردان توسط محققین دیگر گزارش شده است [۲۹] که علت احتمالی این مغایرت با نتایج تحقیق حاضر، می‌تواند به جوان‌تر بودن آزمودنی‌ها و نرمال بودن توزیع مقادیر TGF-β1 قلبی در آنان مربوط شود. اگرچه در تحقیق حاضر مقادیر TGF-β1 و VEGF بافت قلب موش‌های پیر با موش‌های جوان مورد مقایسه قرار نگرفته است که از محدودیت‌های تحقیق نیز محسوب می‌شود، ولی به نظر می‌رسد بخشی از اثرات مطلوب مداخله‌های تحقیق بر بافت قلب موش‌های پیر ممکن است از طریق تعدیل مقادیر VEGF و TGF-β1 قلبی میانجی‌گری شده باشد که به ترتیب می‌تواند به بهبود آنژیوژنز و کاهش فیبروزیس بافت قلبی منجر شود.

با این وجود، سازوکارهای دقیق تأثیر فعالیت ورزشی بر تنظیم مقادیر TGF-β1 و VEGF قلبی به‌خوبی مشخص نیست، اما فعال شدن ژن VEGF توسط فاکتور القا هیپوکسی-۱-آلفا میانجی‌گری می‌شود. از سوی دیگر مشاهده شده که کاهش انتقال هسته‌ای فاکتور القا هیپوکسی-۱-آلفا، به احتمال زیاد منجر به کاهش فعال شدن ژن VEGF (قوی‌ترین محرک اندوتلیال

امروزه دست‌یابی به اطلاعات جدید برای مدیریت تغییر ساختاری و اختلال عملکرد قلبی ناشی از پیری ضروری به نظر می‌رسد [۲۴]. در تحقیق حاضر اثر هشت هفته تمرین هوازی شنا به بر مقادیر VEGF و TGF-β1 بافت قلب موش‌های پیر مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس یافته‌ها هشت هفته تمرین هوازی، مصرف مکمل سیبر و ترکیبی از این دو مداخله منجر به کاهش معنادار TGF-β1 و افزایش مقدار VEGF قلبی در موش‌های پیر می‌شود. شواهد موجود نشان می‌دهد که فیبروز قلبی و سفتی عضله قلب در موش‌های کوچک با نقص TGF-β1 قلبی، کاهش داشته که بیانگر تأثیر مداخله TGF-β1 در سنتز ترکیبات ماتریکس خارج سلولی در قلب است [۲۵]. علاوه بر این، اخلوولیا و همکاران گزارش کرده‌اند که افزایش سن با کاهش ۳/۷ برابری در آنژیوژنز، کاهش ۳ برابری در VEGF، موش‌های فیشر F-344 پیر ۲۴ ماهه همراه بوده است [۲۶]. از این رو، به نظر می‌رسد مداخله‌های پژوهش حاضر می‌تواند اثرات حمایتی خود را بر بافت قلبی موش‌های پیر به‌واسطه کاهش فیبروزیس قلبی و سرکوب عوارض احتمالی ناشی از آن و همچنین افزایش آنژیوژنز اعمال کنند. در این راستا وگتسوما و همکاران، افزایش مقادیر VEGF همراه با بالا رفتن فاکتور القا هیپوکسی-۱-آلفا در بافت قلبی موش‌های تمرین کرده پس از یک دوره نهم‌روزه شنا (۵۰ دقیقه در روز) را گزارش دادند [۲۷]. همچنین به‌طور مشابهی افزایش معناداری بیان مولکولی و مقادیر VEGF قلبی در موش‌های پیر ۲۳ ماهه که به‌طور معناداری از موش‌های جوان کم‌تحرک، پایین‌تر بود پس از هشت هفته تمرین شنا [۴] و یا کاهش مقدار افزایش‌یافته

نیز وانگ و همکاران گزارش کردند که مصرف خوراکی کورکومین با تنظیم منفی بیان TGF- $\beta$ 1 در میوکارد انفاکتوس شده همراه است [۳۴]. ریزی و همکاران هم کاهش مقادیر افزایش یافته TGF- $\beta$ 1 و استرس اکسایشی قلبی را پس از هشت هفته تیمار با آنتی‌اکسیدانت تمپول در موش‌های پرفشارخون شده مشاهده کردند [۳۵]. اگرچه مطالعات انجام‌شده در خصوص تأثیر عصاره سیر بر شاخص‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر به‌ویژه در شرایط پیری یافت نشد که می‌تواند از محدودیت‌های دیگر این تحقیق هم محسوب شود، ولی به‌خوبی تأیید شد که سیر به علت دارا بودن مواد شیمیایی گیاهی مانند S-آلیل مرکاپتوسیسستین، آلین و دی‌آلیل دی‌سولفات یک منبع مهم آنتی‌اکسیدانی است [۳۶، ۳۷]. اثرات حمایت قلبی سیر در مطالعات متعدد انجام‌شده در شرایط آزمایشگاهی بر میوسیت‌های اولیه، فیبروبلاست و سلول‌های اندوتلیال قلبی کشت داده‌شده از طریق کاهش تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی و مسدود کردن کیناز تنظیم‌شده با سیگنال گونه‌های اکسیژن واکنشی خارج سلولی وابسته به فاکتور هسته‌ای کاپا بی NF-kB تأیید شده است [۳۷، ۳۸]. بنابراین به نظر می‌رسد مصرف عصاره سیر مشابه با فعالیت ورزشی شنا از طریق کاهش استرس اکسایشی، التهاب و یا افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش VEGF و تنظیم منفی TGF- $\beta$ 1 قلبی در موش‌های پیر شود.

### نتیجه‌گیری:

یافته‌های پژوهش حاضر بیانگر نقش مطلوب ورزش شنا و مصرف عصاره سیر در کاهش مقدار TGF- $\beta$ 1 و افزایش VEGF و همچنین تغییرات بیش‌تر، اما غیر معنادار این متغیرها با ترکیبی از دو مداخله فوق است، بنابر این مداخله‌های غیر دارویی فوق ممکن است برای پیشگیری از افزایش فیبروز و کاهش آنژیوژنز قلبی ناشی از پیر شدن، به‌واسطه افزایش VEGF و تنظیم منفی TGF- $\beta$ 1 مفید باشند.

### تشکر و قدردانی:

بدین‌وسیله از کلیه همکارانی که در اجرای این تحقیق نویسندگان را یاری کرده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

### تعارض و منافع:

نویسندگان هیچ تعارض منافع با توجه به تالیف و / یا انتشار این مقاله اعلام نکرده‌اند.

در سلول‌های اندوتلیال میکرو عروقی میوکارد) و اختلال رگ زایی در قلب پیر شده می‌شود [۲۶]. همچنین پاسخ آنژیوژنز به VEGF تا حدودی به‌واسطه ژن نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی میانجی‌گری می‌شود، به‌طوری‌که رگ زایی ناشی از VEGF در موش‌هایی با ژن eNOS / \_ دچار اشکال شده بود [۳۰]. مسیر سیگنالینگ VEGF بزرگ‌ترین فاکتور محرکی برای آنژیوژنز فیروپولوژیکی و پاتولوژیکی است و فعالیت ورزشی منجر به افزایش چگالی مویرگی، نسبت مویرگ به میوسیت و افزایش VEGF قلبی و گیرنده آن می‌شود. افزایش اتصال VEGF به گیرنده آنژیوژنیک خود منجر به افزایش فسفوریلاسیون نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی از طریق فعال‌سازیر پروتئین AKT و در نهایت افزایش فرآیند آنژیوژنیک در موش‌های پیر تمرین کرده می‌شود [۴]. علاوه بر این، VEGF هم منجر به تحریک فعال‌سازی ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ می‌شود که نقش مهمی در آنژیوژنز دارد و می‌تواند کلاژن IV غشای پایه و کلاژن غیرطبیعی نوع I و III (اجزای اصلی از ماتریکس خارج سلولی قلبی) را کاهش دهد [۳۱]. همچنین TGF- $\beta$  ممکن است نقش مهمی در فیروز قلبی مرتبط با پیری از طریق ایجاد لقا تمایز یافتن میوفیبروبلاست‌ها و افزایش سنتز پروتئین ماتریکس به‌واسطه فیبروبلاست‌های قلبی ایفا کند [۳۲]. از سوی دیگر، TGF- $\beta$  نیز منجر به مهار ماتریکس متالوپروتئیناز و تحریک مهارکننده‌های آن‌ها و همچنین میوفیبروبلاست‌ها می‌شود. ماتریکس متالوپروتئینازها منجر به تخریب کلاژن شده، درحالی‌که بازدارنده‌های آن‌ها و میوفیبروبلاست‌ها سبب مهار تخریب و در نتیجه افزایش سنتز کلاژن می‌شوند [۲۴]. از سوی دیگر، گونه‌های اکسیژن واکنشی و آنژیوتانسین II ممکن است منجر به فعال‌سازی مسیرهای پیام‌دهی TGF- $\beta$ 1 و تنظیم مثبت افکتورهای فیروژنیک پایین‌دست آن در قلب پیر شوند [۳۳]. فعالیت ورزشی با افزایش تنش برشی، بیان و فعالیت ژن نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی افزایش می‌دهد و تولید نیتریک اکسید را تعدیل می‌کند. همچنین فعالیت ورزشی ممکن است به‌واسطه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، کاهش استرس اکسایشی و التهاب منجر به تعدیل TGF- $\beta$ 1 و VEGF در بافت قلبی موش‌های پیر شود.

از یافته‌های مهم دیگر تحقیق حاضر، کاهش مقدار TGF- $\beta$ 1 و افزایش VEGF پس از مصرف عصاره سیر بود که این اثرات در مداخله ترکیبی با فعالیت ورزشی شنا به‌طور غیر معناداری بیشتر شد. در این راستا، هارا و همکاران نشان دادند که ۱۸ هفته تأثیر عصاره سیر، با بهبود عملکرد و افزایش کمتر جرم بطن چپ و کاهش فیبروز بینابینی در موش‌های حساس به نمک دهل با رژیم غذایی پرنمک می‌شود [۲۱]. در بررسی مکمل‌های دیگر

## References:

1. Majeed F, Kelemen MD. Acute coronary syndromes in the elderly. *Clin Geriatr Med* 2007; 23(2): 425-440.
2. Besse S, Bulteau AL, Boucher F, et al. Antioxidant treatment prevents cardiac protein oxidation after ischemia-reperfusion and improves myocardial function and coronary perfusion in senescent hearts. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57(4): 541-552.
3. Ahluwalia A, Tarnawski AS. Activation of the metabolic sensor-AMP activated protein kinase reverses impairment of angiogenesis in aging myocardial microvascular endothelial cells. Implications for the aging heart. *J Physiol Pharmacol* 2011;62(5):583-7.
4. Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, et al. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291(3):H1290-H1298.
5. Rivard A, Fabre JE, Silver M, et al. Age-dependent impairment of angiogenesis. *Circulation* 1999; (1): 111-120.
6. Ferrara N, Gerber HP. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Haematol* 2001;106:148-156.
7. Edelberg JM, Lee SH, Kaur M, et al. Platelet-derived growth factor-AB limits the extent of myocardial infarction in a rat model: feasibility of restoring impaired angiogenic capacity in the aging heart. *Circulation* 2002;105(5):608-13.
8. Biernacka A, Frangogiannis NG. Aging and Cardiac Fibrosis. *Aging Dis.* 2011;2(2):158-173.
9. Gramley F, Lorenzen J, Knackstedt C, et al. Age-related atrial fibrosis. *Age (Dordr)* 2009;31(1):27-38.
10. Siwik DA, Colucci WS. Regulation of Matrix metalloproteinases by cytokines and reactive oxygen/nitrogen species in the myocardium. *Heart Fail Rev* 2004;9(1):43-51.
11. Hinck AP. Structural studies of the TGF- $\beta$ s and their receptors - insights into evolution of the TGF- $\beta$  superfamily. *FEBS Lett* 2012;586(14):1860-1870.
12. Rosenkranz S, Flesch M, Amann K, Haeuseler C, Kilter H, Seeland U, et al. Alterations of  $\beta$ -adrenergic signaling and cardiac hypertrophy in transgenic mice overexpression of TGF- $\beta$ 1. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(3): H1253-62.
13. Gramley F, Lorenzen J, Koellensperger E, Kettering K, Weiss C, Munzel T. Atrial fibrosis and atrial fibrillation: the role of the TGF- $\beta$ 1 signaling pathway. *Int J Cardiol* 2010;143(3):405-13.
14. Seals DR, Desouza CA, Donato AJ, Tanaka H. Habitual exercise and arterial aging. *J Appl Physiol* (1985). 2008;105(4):1323-32.
15. Seals DR, Walker AE, Pierce GL, Lesniewski LA. Habitual exercise and vascular ageing. *J Physiol* 2009;587(Pt 23):5541-9.
16. Husain K. Physical conditioning modulates rat cardiac vascular endothelial growth factor gene expression in nitric oxide-deficient hypertension. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;320(4):1169-74.
17. Fleener BS, Marshall KD, Durrant JR, et al. Arterial stiffening with ageing is associated with transforming growth factor- $\beta$ 1-related changes in adventitial collagen: reversal by aerobic exercise. *J Physiol* 2010;588(Pt 20):3971-82.
18. Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutr J* 2002 ;1:4.
19. Chan JY, Yuen AC, Chan RY, et al. A review of the cardiovascular benefits and antioxidant properties of allicin. *Phytother Res* 2013;27(5): 637-646.
20. Ried K, Frank OR, Stocks NP. Aged garlic extract reduces blood pressure in hypertensives: a dose-response trial. *Eur J Clin Nutr* 2013;67(1):64-70.
21. Hara Y, Noda A, Miyata S, et al. Effects of aged garlic extract on left ventricular diastolic function and fibrosis in a rat hypertension model. *Exp Anim* 2013;62(4):305-10.
22. Peng CC, Chen KC, Hsieh CL, et al. Swimming Exercise Prevents Fibrogenesis in Chronic Kidney Disease by Inhibiting the Myofibroblast Transdifferentiation. *PLoS One* 2012; 7 (6): e37388.
23. Seo DY, Kwak HB, Lee SR, et al. Effects of aged garlic extract and endurance exercise on skeletal muscle FNDC-5 and circulating irisin in high-fat-diet rat models. *Nutr Res Pract* 2014;8(2):177-82.
24. Kwak H B. Aging, exercise, and extracellular matrix in the heart. *J Exerc Rehabil* 2013; 9(3): 338-347.
25. Brooks WW, Conrad CH. Myocardial fibrosis in transforming growth factor beta(1)heterozygous mice. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32(2):187-195
26. Ahluwalia A, Narula J, Jones MK, et al. Impaired angiogenesis in aging myocardial microvascular endothelial cells is associated with reduced importin alpha and decreased nuclear transport of HIF1 alpha: mechanistic implications. *J Physiol Pharmacol* 2010;61(2):133-9.
27. Wagatsuma A, Tamaki H and Ogita F. Expression of VEGF and its receptor in the heart tissue following short-term swimming training. *Int J of Sport and Health Sci* 2005; 3: 91-99.
28. Kwak HB, Kim JH, Joshi K, et al. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. *FASEB J* 2011; 25(3):1106-17.
29. Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartłomiejczyk I, et al. The effect of acute and prolonged endurance exercise on transforming growth factor-beta1 generation in rat skeletal and heart muscle. *J Physiol Pharmacol* 2009;60(4):157-62.
30. Fukumura D, Gohongi T, Kadambi A, et al. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(5): 2604-2609.
31. Friehs I, Barillas R, Vasilyev NV, et al. Vascular endothelial growth factor prevents apoptosis and preserves contractile function in hypertrophied infant heart. *Circulation* 2006;114(1 Suppl):I290-5.
32. Bujak M, Frangogiannis NG. The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling. *Cardiovasc Res* 2007;74(2):184-95.
33. Biernacka A, Frangogiannis NG. Aging and Cardiac Fibrosis 2011;2(2): 158-173.

\* نویسنده مسئول، نشانی: قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، دانشکده علوم انسانی

پست الکترونیک: habibian\_m@yahoo.com

تلفن تماس: ۰۹۱۱۲۸۵۷۲۶

پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۷

اصلاح: ۹۴/۱۲/۸

دریافت: ۹۴/۸/۳۰

34. Wang NP, Wang ZF, Tootle S, et al. Curcumin promotes cardiac repair and ameliorates cardiac dysfunction following myocardial infarction. *Br J Pharmacol.* 2012;167(7):1550-62.
35. Rizzi E, Castro MM, Ceron CS, et al. Tempol inhibits TGF- $\beta$  and MMPs upregulation and prevents cardiac hypertensive changes. *Int J Cardiol.* 165(1):165-73.
36. Sener G, Sehirli O, Ipçi Y, et al. Aqueous garlic extract alleviates ischaemia-reperfusion-induced oxidative hepatic injury in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 57(1): 145-150.
37. Badr GM, Al-Mulhim JA. The protective effect of aged garlic extract on nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric inflammations in male albino rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014(2014); Article ID 759642;1-9.
38. Kim SR, Jung YR, An HJ, Kim DH, Jang EJ, Choi YJ, et al. Anti-wrinkle and anti-inflammatory effects of active garlic components and the inhibition of MMPs via NF- $\kappa$ B signaling. *PLoS One* 2013;8(9):e73877.

Archive of SID

## The Combined Effects of Swimming Exercise and Garlic Extract on some Mediator Factors on the Cardiac Angiogenesis and Fibrosis in aged Rats

Habibian M<sup>1\*</sup>, Asadi M.A<sup>2</sup>

Received: 11/21/2015

Revised: 2/28/2016

Accepted: 3/7/2016

1. Dept of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Qaemshahar Branch, Qaemshahar, Iran

2. Dept of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 13, No.4, Winter 2016

OPar J Med Sci 2015;13(4):39-46

### Abstract

#### Introduction:

Aging is a major risk factor for gradual structural and functional damage to the heart and is associated with different changes in angiogenesis and cardiac fibrosis. The present study was conducted to determine the combined effect of swimming exercise and garlic extract on some of the factors mediating angiogenesis and cardiac fibrosis in old rats.

#### Materials and Methods:

A total of 35 old Wistar rats were randomly divided into a control, a saline, an aerobic exercise, a garlic and an aerobic exercise plus garlic group. The rats were given an exercise regimen of swimming 60 minutes per day and three days per week for eight weeks. The aerobic exercise and the aerobic exercise plus garlic groups were treated with 2.5 g/kg of body weight garlic extract. The pre- and post-intervention levels of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Transforming Growth Factor beta 1 (TGF- $\beta$ 1) were measured in all the groups. The data obtained were analyzed using the one-way ANOVA at a significance level of  $P < 0.05$ .

#### Results:

The results obtained showed a significant increase in VEGF and a significant reduction in TGF- $\beta$ 1 in the old rats following eight weeks of swimming, garlic supplementation and their combination ( $P < 0.05$ ). However, these interventions were not significantly different from each other in the effects exerted on VEGF and TGF- $\beta$ 1 in the old rats ( $P > 0.05$ ).

#### Conclusion:

Each of the non-medicinal interventions of either regular exercise, garlic supplementation or their combination is likely to reduce age-related changes in angiogenesis and cardiac fibrosis through the positive regulation of VEGF and the reduction of TGF- $\beta$ 1.

**Keywords:** Aging, Angiogenesis, Heart Tissue, Fibrosis, Exercise

\* Corresponding author, Email: habibian\_m@yahoo