

# اثر تمرین هوازی شنا و مصرف عصاره سیر بر سطوح برخی از فاکتورهای رشد مداخله گر در آنژیوژنز و نروژنز بافت مغز در موش‌های صحرایی پیر

نویسندگان: امیر حسین اسلامی<sup>۱</sup>، معصومه حبیبیان<sup>۲\*</sup>، پروین فرزاتگی<sup>۳</sup>

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران
۲. استادیار گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران
۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران

E-mail: habibian\_m@yahoo.com

\* نویسنده مسئول: معصومه حبیبیان

### چکیده

مقدمه و هدف: با افزایش سن، آنژیوژنز و نروژنز در مغز کاهش می‌یابد؛ درحالی‌که فعالیت ورزشی منظم و مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی با تغییرات فیزیولوژیکی مختلف در مغز همراه می‌باشند. لذا هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر تمرین هوازی شنا و عصاره سیر بر سطوح برخی از فاکتورهای رشد مداخله‌گر، در آنژیوژنز و نروژنز بافت مغز در موش‌های صحرایی پیر بود.

مواد و روش‌ها: ۳۵ سر موش پیر (۲۰ تا ۳۰ ماهه) صحرایی نر ویستار پیر، به صورت تصادفی، به ۵ گروه (۷ تایی) کنترل، سالی، تمرین هوازی، سیر و تمرین هوازی + سیر تقسیم شدند. حیوانات با تمرین شنا به مدت ۶۰ دقیقه، ۳ بار در روز، به مدت ۸ هفته، ورزش داده شدند. عصاره سیر (۲/۵ گرم/کیلوگرم وزن بدن) به صورت گاواژ معده مصرف شد. موش‌ها ۷۲ ساعت پس از آخرین مداخله‌ها کشته شدند و سطوح مغزی فاکتور رشد تبدیل بتا ۱ (TGF-β1) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) به روش الیزا تعیین شد. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای آنالیز داده‌ها استفاده شد ( $p < 0/05$ ).

نتایج: نتایج نشان داد که ۸ هفته تمرین منظم شنا و مصرف سیر و ترکیبی از دو مداخله، موجب کاهش سطوح مغزی TGF-β1 و افزایش VEGF در مقایسه با گروه کنترل شد ( $p < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که تمرین منظم شنا و مصرف سیر و ترکیبی از دو مداخله می‌تواند از کاهش آنژیوژنز و نروژنز مغزی مرتبط به پیری، به واسطه تنظیم مثبت سطوح VEGF و کاهش سطوح TGF-β1 در رت‌های پیر حمایت نماید.

واژگان کلیدی: مغز، نروژنز، شنا، فاکتور رشد تبدیل-بتا یک، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی.

دوماهنامه علمی-پژوهشی  
دانشگاه شاهد  
سال بیست و سوم-شماره ۲۱  
اسفند ۱۳۹۴

دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۹

آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۴/۱۲/۰۳

پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۰

## مقدمه

آکسون/ دندريت و عملکرد سیناپسی دارد (۹). از سوی دیگر مشاهده شده است که تولید بیش از حد فاکتور تبدیل رشد بتا (TGF- $\beta$ 1: Transforming growth factor- $\beta$ ) سبب تجمع پروتئینی غشای پایه و در نتیجه، آمیلوئیدوز مغزی مشابه با بیماری آلزایمر و همچنین تخریب مویرگی در مغز می شود (۱۰). این فاکتور رشد ممکن است نقش مهمی در مهاجرت سلول های عصبی ایفا کند (۱۱) و افزایش مزمن تولید آن از فرایند نروژنز در بدن جلوگیری می کند. TGF- $\beta$ 1 با آسیب مغزی حاد یا مزمن، از قبیل سکتة مغزی، ضربه، تشنج، مولتیپل اسکلروز و بیماری آلزایمر القا می شود (۱۲). افزایش بیان TGF- $\beta$ 1 در شرایط پاتولوژیک بیماری های عصبی، ترومای حاد، التهاب عصبی و پیری مشاهده شده است (۱۳).

در دهه های اخیر، سطوح پایین فعالیت بدنی در میان سالی، یک عامل خطرزا برای پیری ناسالم مغز در نظر گرفته می شود (۱۴). از سوی دیگر به نظر می رسد، ورزش در این دوره از طول عمر، اثرات قابل توجهی در عملکرد عروق داشته باشد (۱۵). سلامت مغز و عملکرد شناختی با فعالیت ورزشی افزایش می یابد. بسیاری از اثرات حمایت عصبی فعالیت ورزشی از طریق اعمالی که نروژنز، مرفولوژی نرونی یا رهایی نروتروفین ها را افزایش می دهد، میانجیگری می شود؛ اما مغز از عناصر عروقی نیز تشکیل شده است (۱۶). مطالعات قبلی نشان داد که ۳۰ دقیقه ورزش روی نوارگردان در روز و به مدت ۳ هفته، با افزایش میزان رگزایی و VEGF در عروق مغزی موش های پیر ماده همراه بود (۱۷). لوید و همکاران (۱۸) گزارش دادند که تمرین ورزشی باعث افزایش رگزایی از طریق فعال شدن VEGF می شود؛ علاوه بر این تأثیر فعالیت ورزشی بر تنظیم منفی TGF- $\beta$ 1 بافت های مختلف، در مدل حیوانی گزارش شده است (۱۹،۲۰)؛ با وجود این تأثیر تمرینات ورزشی منظم بر سطوح VEGF و TGF- $\beta$ 1 مغزی در شرایط پیری به خوبی مشخص نیست. امروزه، استفاده از

در دوران پیری، تغییرات مولکولی، سلولی، ساختاری و عملکردی چندگانه در مغز رخ می دهد. سلول های عصبی ممکن است به این تغییرات پاسخ های انطباقی دهند یا تسلیم مجموعه ای از اختلالات عصبی مانند بیماری های آلزایمر و پارکینسون شوند (۱). با افزایش سن، تعداد سلول های عصبی مغز به طور قابل توجهی کاهش می یابد و جریان خون مغزی، حدود ۲۰ درصد تقلیل می یابد. از سوی دیگر، اندازه مغز اندکی کاهش می یابد و برخی نرون ها در بخش هایی از مناطق مغز، از دست می روند (۲). تغییرات مغزی ناشی از سن، حتی برای افراد سالم از نظر بالینی نیز اجتناب ناپذیر است و خطر ابتلا به زوال عقل و شیوع آسیب های عصبی با افزایش سن توسعه می یابد (۳)؛ علاوه بر این نروژنز مغزی در دوران پیری کاهش می یابد و باعث کاهش پیش رونده عملکرد شناختی می شود (۴). همچنین افزایش سن منجر به بروز تعدادی از تغییرات در سیستم عروقی می شود که در تخریب وابسته به سن مغز دخالت دارد. در سطح ماکروسکوپی، کم شدن تراکم عروقی در مغز پیر، منجر به کاهش جریان خون و اکسیژن به بافت های مغز می شود که ممکن است حتی توسط عوامل پاتولوژیکی بدتر نیز شود (۵). مطالعات قبلی نشان می دهد که افزایش سن با آسیب آنژیوژنز مغزی نیز همراه است که دلیل آن تا حدی، به کاهش بیان سطوح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (vascularendothelial VEGF: growth factor) مربوط می شود (۶)؛ به طوری که سطوح کمتر VEGF در عروق میکروسکوپی مغز موش های پیر، در مقایسه با موش های جوان مشاهده شد (۷). VEGF هر دو عمل آنژیوژنز و نروژنز را میانجیگری می کند (۸) و می تواند مستقل از نقش اساسی خود، در رشد عروق خونی، از سلول های عصبی نیز حمایت نماید. نروژنز در مجاورت رگ های خونی در حال رشد رخ می دهد و VEGF نقش مهمی در تنظیم تکثیر سلول های پیش ساز عصبی، بقا، مهاجرت، الگودهی

ابعاد  $15 \times 26/5 \times 42$  سانتی متر، دمای  $2 \pm 22$  درجه سانتی گراد، رطوبت  $5 \pm 55$  درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب نگهداری شدند و آزادانه، به آب و غذای پلت (ساخت شرکت بهپرور کرج) دسترسی داشتند.

برنامه تمرینی: موش‌های گروه‌های تمرینی، قبل از شروع پروتکل اصلی، به مدت یک هفته (پنج روز)، هر بار به مدت پنج دقیقه، به منظور آشنایی با آب تمرین داده شدند. برنامه تمرینی اصلی ورزشی شامل شنا کردن در تانکر ویژه جوندگان، به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته و ۶۰ دقیقه در هر جلسه بود (۲۳). پروتکل تمرینی شنا در ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح اجرا شد و دمای آب برای شنا کردن نیز  $2 \pm 32$  درجه سانتی گراد بود. همچنین پنج دقیقه قبل و بعد از تمرین، برای گرم و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد. پس از انجام تمرینات شنا در هر جلسه، حیوانات در هیتر مخصوص جوندگان قرار داده شده و پس از قرار گرفتن در معرض جریان هوای گرم با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد، خشک می شدند.

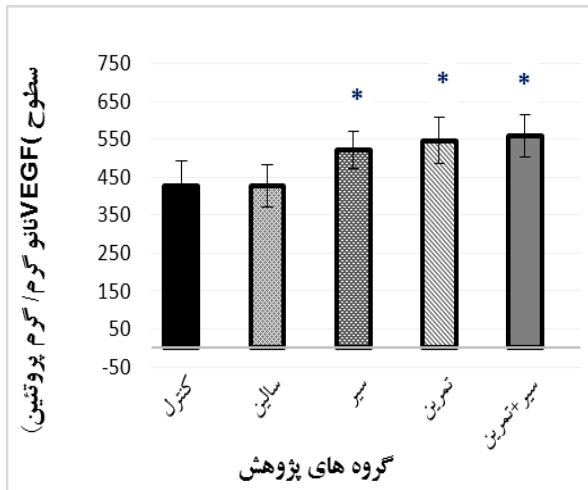
تهیه عصاره سیر: سیر کهنه پس از تمیز و خرد (له) شدن در دما و رطوبت معمولی، به مدت سه ماه نگهداری شده و به روش ماسراسیون عصاره گیری شد. به طور خلاصه، جهت عصاره گیری، ۵۰ گرم از سیر خرد شده با متانول به نسبت ۱ به ۳ مخلوط شد و پس از ۲۴ ساعت، توسط کاغذ صافی و قیف بوختر صاف گردید. محلول صاف شده در دستگاه تقطیر، در خلأ، در دمای ۵۰ درجه تقطیر شد تا زمانی که حجم باقی مانده به یک پنجم حجم اولیه رسید. سپس محلول حاصل بعد از سه مرتبه دکانته کردن با ۵۰ میلی لیتر کلروفرم، در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد، در دستگاه آون خشک شد. سپس پودر عصاره خشک شده با آب مقطر مخلوط شد و به میزان ۲/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به گروه‌های مکمل و تمرین مکمل، گاوژ شد (۲۴). گروه سالیین هم به همان میزان مکمل، با سالیین گاوژ شدند.

داروها یا مواد حمایت کننده از اعصاب بسیار مهم است. سیر خوراکی (*Allium sativum*) یکی از گیاهانی است که در طول تاریخ تمدن، برای درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌های مرتبط با پیری استفاده می شود. سیر دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی است و پیشنهاد شده است که بر اساس این خواص، سیر مانع بروز وقایع قلبی، عروق مغزی و زوال عقل می شود (۲۱)؛ همچنین سیر ممکن است نقش حمایتی مهمی در مقابل ازدست رفتن عملکرد مغزی ناشی از افزایش سن داشته باشد و اثرات ضدپیری دیگر نیز به واسطه مشاهده توانایی اش در افزایش عملکرد شناختی و حافظه و طول عمر در یک مدل تجربی از موش‌های پیر تأیید شد (۲۲). در عصر حاضر، بسیاری از افراد به مدت نه دهه یا بیشتر زندگی می کنند و از داشتن مغزی با عملکرد سالم تا پایان زندگی لذت می برند؛ بر این اساس، هدف اصلی پژوهش در زمینه نروبیولوژی، شناسایی راه‌هایی برای دستیابی به پیری موفق مغز، برای تمامی افراد است (۱)؛ لذا با توجه به تغییرات ساختاری و عملکردی مغز با افزایش سن (۱)، تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر هشت هفته تمرین منظم شنا و استفاده از عصاره سیر بر سطوح برخی فاکتورهای رشد مداخله گر در آنژیوژنیک و نروژنیک (VEGF و TGF- $\beta$ 1) بافت مغز موش‌های صحرایی پیر انجام شد.

### روش بررسی

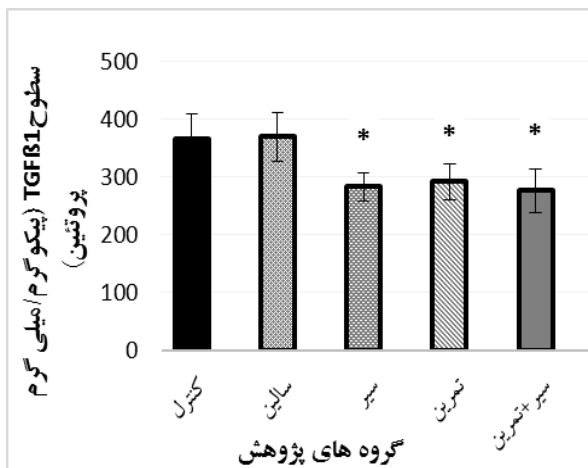
آزمودنی‌ها: پژوهش تجربی حاضر، با استفاده از طرح پس‌آزمون همراه با گروه کنترل انجام شد. آزمودنی‌ها شامل موش‌های صحرایی نر بالغ پیر ۴۸ تا ۵۰ هفته‌ای (بیش از یک سال) نژاد ویستار، با میانگین وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم بود. حیوانات پرورش داده شده، پس از انتقال به محیط جدید، به صورت تصادفی، به پنج گروه کنترل، سالیین، تمرین هوازی، سیر و تمرین هوازی + سیر تقسیم شدند (هفت سر موش در هر گروه). این حیوانات در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف به

کنترل و سالین کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۲)؛ اما علی‌رغم تغییرات فوق، تفاوت معنی‌داری بین سطوح مغزی VEGF و TGF-β1 موش‌های پیر گروه‌های تمرین و مکمل سیر و ترکیبی مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).



شکل ۱. مقایسه میانگین سطوح VEGF در بافت مغز گروه‌های مختلف

هر سه مداخله تمرین شنا و مصرف عصاره سیر و مداخله ترکیبی منجر به افزایش معنی‌دار سطوح VEGF مغزی در موش‌های پیر شد: \* معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه‌های کنترل و سالین.



شکل ۲. مقایسه میانگین سطوح TGF-β1 بافت مغز، در گروه‌های مختلف

هر سه مداخله تمرین شنا و مصرف عصاره سیر و مداخله ترکیبی منجر به کاهش معنی‌دار سطوح TGF-β1 مغزی در موش‌های پیر شد: \* معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه‌های کنترل و سالین.

بافت‌برداری و هموژنیزه: ۷۲ ساعت بعد از آخرین مداخله‌ها، حیوانات با استفاده از تزریق درون‌صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش و سپس فدا شدند. پس از شکافتن حفره جمجمه، بافت مغز به دقت جدا و تا زمان بررسی‌های آزمایشگاهی در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بافت فریز شده، پس از پودر شدن در بافر پروتئاز (PBS, PH 7.4) هموژنیزه شد. سطوح مغزی VEGF و TGF-β1 با استفاده از روش الایزا و کیت‌های ویژه، به ترتیب با حساسیت کمتر از ۰/۰۱ نانوگرم/لیتر و ۲/۱ پیکوگرم/میلی‌لیتر تعیین شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری: از آزمون‌های شاپیروویلک و لوین به ترتیب، برای تعیین توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها استفاده شد. جهت بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر متغیرهای پژوهش، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و در صورت معنی‌داری اختلاف بین گروه‌ها، جهت روشن‌نمودن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰، در سطح معناداری  $P < 0.05$  انجام شد.

#### یافته‌ها

بر اساس نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه و ارزش F محاسبه شده برای داده‌های VEGF و TGF-β1 (به ترتیب ۸/۷۱۴ و ۱۱/۶۰۵) و معنی‌دار بودن آن‌ها در سطح  $P = 0.000$  از آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین محل اختلاف استفاده شد. یافته‌ها نشان داد که هشت هفته تمرین شنا (۲۷/۸۸٪،  $P = 0.005$ ) و تیمار با عصاره سیر (۲۲/۲۵٪،  $P = 0.034$ ) و ترکیبی از این دو مداخله (۳۱/۰۹٪،  $P = 0.002$ )، با افزایش معنی‌دار سطوح VEGF در بافت مغز موش‌های پیر همراه بود (شکل ۱). به طور معکوسی، سطوح مغزی TGF-β1 موش‌های پیر پس از تمرین شنای مزمن (۲۰/۱۰٪،  $P = 0.005$ ) و مصرف مکمل سیر (۲۱/۷۷٪،  $P = 0.001$ ) و ترکیبی از این دو مداخله (۲۴/۵۱٪،  $P = 0.001$ )، در مقایسه با گروه‌های

## بحث

گیرنده VEGF در مغز باشد (۲۷). اگرچه در تحقیق حاضر سطوح VEGF و TGF- $\beta$ 1 بافت مغز موش‌های پیر با موش‌های جوان مورد مقایسه قرار نگرفت که از محدودیت‌های تحقیق حاضر نیز محسوب می‌شود، ولی با جمع‌بندی نتایج تحقیقات مورد بحث و یافته‌های تحقیق حاضر به نظر می‌رسد، بخشی از اثرات مطلوب مداخله‌های تحقیق بر بافت مغز موش‌های پیر می‌تواند از طریق تعدیل سطوح VEGF و TGF- $\beta$ 1 مغزی میانجی‌گری شده باشد که در نتیجه می‌تواند به بهبود آنژیوژنز و نروژنز بافت مغزی در موش‌های پیر منجر شود. مشابه با نتایج تحقیق حاضر نیز افزایش سطوح VEGF در بخش قشری و هیپوکامپ مغز در موش‌های کوچک میانسال (۱۱ تا ۱۳ ماهه) پس از ۶ هفته دویدن روی چرخ دوار (۱۶) و همچنین افزایش بیان ژنی VEGF در هیپوکامپ موش‌های کوچک ۲۱ ماهه پس از ۸ هفته تمرین شدید، با شدت بالاتر از آستانه لاکتات (۲۸)، توسط محققین دیگر نیز تأیید شد. ویبول و اراکول و همکاران نیز گزارش نمودند که سطوح VEGF عروق میکروسکوپی مغز در موش‌های مسن (۲۳ تا ۲۴ ماهه) به طور معنی‌داری پایین‌تر از موش‌های جوان (۴ تا ۶ ماهه) بود که پس از ۸ هفته تمرین شنا تا سطوحی نزدیک به مقادیر آن در موش‌های جوان، افزایش یافته بود (۷). این یافته‌ها تأیید دیگری بر نقش حمایت مغزی فعالیت ورزشی در شرایط پیری مغز است؛ با وجود این در زمینه تأثیر فعالیت ورزشی بر سطوح TGF- $\beta$ 1 بافت مغز موش‌های پیر، مطالعه‌ای مشاهده نشد که از محدودیت‌های دیگر تحقیق حاضر نیز محسوب می‌شود؛ ولی کواک و همکاران نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین هوازی به مدت ۴۵ دقیقه در هر جلسه و ۵ روز/هفته موجب کاهش سطح TGF- $\beta$ 1 در بافت بطن چپ موش‌های مسن شد (۲۰). فلینور و همکاران نیز کاهش در کلاژن و بیان TGF- $\beta$ 1 شریان کاروتیدی را در

افزایش سن با آسیب آنژیوژنز (۶) و کاهش نروژنز (۴) مغزی همراه است؛ لذا در مطالعه حاضر، اثر هشت هفته تمرین منظم شنا و استفاده از عصا سیر بر سطوح برخی فاکتورهای رشد مداخله‌گر در آنژیوژنز و نروژنز بافت مغز موش‌های صحرایی پیر بررسی شد. بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل سیر و ترکیبی از این دو مداخله، منجر به کاهش معنی‌دار سطوح TGF- $\beta$ 1 و افزایش VEGF بافت مغزی در موش‌های پیر شد که ممکن است بیانگر تأثیر حمایتی مغزی مداخله‌های پژوهش از مسیرهای آنژیوژنز و نروژنز در موش‌های پیر باشد. در این راستا گارتنر و همکاران گزارش نمودند که در موش‌های ترانسژنیک (دارای بیان اضافی TGF- $\beta$ 1) تغییرات مننژ و عروق همانند بیماری آلزایمر توسعه یافته بود؛ به علاوه نتایج رادیوگرافی تعیین جریان خون مغزی نیز بیانگر کاهش پرفیوژن بافتی در مناطق لیمبیک موش‌های ترانسژنیک، در مقایسه با موش‌های سالم بود (۲۵). همچنین مشاهده شد که پس از بلاکه کردن سیگنالینگ TGF- $\beta$  در داخل بدن با استفاده از یک آنتی‌بادی خنثی‌کننده یا مهارکننده انتخابی، بهبودی قابل توجهی در نروژن و مهار آپوپتوز و افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی/پیش‌ساز عصبی در موش‌های پیر صورت گرفت (۲۶)؛ بنابراین، تنظیم منفی TGF- $\beta$ 1 متعاقب مداخله‌های تمرین ورزشی، مصرف سیر و ترکیبی نیز ممکن است به افزایش نروژنز و آنژیوژنز بافت مغزی موش‌های پیر در تحقیق حاضر منجر شده باشد. از سوی دیگر گائو و همکاران نشان دادند پس از تزریق یک ماده القاکننده آنژیوژنز و کاهش‌دهنده صدمات ایسکمی، دانسیته عروقی در مغز هر سه گروه از موش‌های کوچک جوان (۳ ماهه) و میان‌سال (۱۲ ماهه) و مسن (۲۴ ماهه) افزایش یافت. به اعتقاد محققان پاسخ آنژیوژنیک و نروژنیک به تحریک VEGF با افزایش سن، کم می‌شود که ممکن است به علت کاهش فعالیت

است از مسیرهای متفاوت از جمله کاستن تعداد میکروگلیای فعال شده و سرکوب التهاب (۳۷،۳۶)، منجر به کاهش TGF- $\beta$ 1 در بافت مغز موش‌های پیر شود. از سوی دیگر فعالیت ورزشی از طریق افزایش محیطی فاکتورهای رشد شبه‌انسولینی -1 و VEGF و همچنین تسهیل عبور این فاکتورها از سد خونی مغزی (۳۶-۳۸) می‌تواند منجر به افزایش تکثیر و حیات سلول‌های عصبی (۳۹) و در نتیجه افزایش تحریک آنژیوژنز در بافت مغزی شود. فاکتور رشد شبه‌انسولینی -1 علاوه بر نقش خود در نروژنز، برای بازسازی عروقی ناشی از ورزش مغز لازم و ضروری است (۴۰) و بخشی از اثرات آن ممکن است به واسطه القای VEGF میانجیگری شود (۳۸).

از جمله یافته‌های مهم دیگر تحقیق حاضر، کاهش سطوح مغزی TGF- $\beta$ 1 و افزایش VEGF پس از تیمار مزمن با عصاره سیر و افزایش این تغییرات متعاقب مداخله ترکیبی از این دو مداخله بود. سلیم و همکاران گزارش نمودند که عصاره سیر به‌طور موثری منجر به تعدیل تغییرات عصبی رفتاری و عصبی‌شیمیایی در طی ایسکمی کانونی القاشده در مغز میانی می‌شود که ممکن است به خواص آنتی‌اکسیدانی آن مربوط گردد (۴۱). ری و همکاران نشان دادند پیش‌درمانی با عصاره سیر کهنه می‌تواند از ۸۰ درصد سلول‌های عصبی در مقابل آسیب ناشی از گونه‌های اکسیژن واکنشی حفاظت نماید (۴۲). آیین، آلین سیستین، آلید دی‌سولفید و آلین به‌عنوان ترکیبات محافظتی موجود در سیر شناخته شده‌اند که الگوهای مختلف فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد دارند (۴۳). محققین نشان دادند که درمان با دوز مناسبی از آلین، با اثرات حمایتی در مقابل آسیب مغزی ناشی از تروما، از طریق افزایش فعالیت‌های ضدالتهابی و ضداکسایشی میانجیگری شده از مسیر تیریک اکسیدستاناز اندوتلیالی Akt/ همراه بود (۴۴). همچنین تیاکریمونون (thiacremonone)، یک ترکیب گوگردی جدا شده از سیر،

موش‌های کوچک مسن (۲۹ تا ۳۲ ماهه) پس از ۱۰ تا ۱۴ هفته، فعالیت ورزشی روی چرخ دوار گزارش نمودند (۱۹)؛ اگرچه مکانیسم‌های دقیق تأثیر تمرین بر سطوح مغزی TGF- $\beta$ 1 و VEGF به‌خوبی مشخص نیست، ولی مهار نروژنز هیپوکامپ، در شرایط بیان اضافی پروتئین TGF- $\beta$ 1 یا تزریق مستقیم آن به بطن خارجی مغز در حیوانات سالم مشاهده شد (۱۲). نروژنز در بزرگ‌سالی شامل تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی، وجود سیکل سلولی، تمایز، مهاجرت و یکپارچگی درون مسیرهای گردشی عصبی در طی فرایندی است که حافظه و یادگیری در مغز سالم را دربرمی‌گیرد (۲۹)؛ باوجود این نروژنز با افزایش سن کاهش می‌یابد (۳۰) و پیشنهاد شده است که TGF- $\beta$ 1 به‌عنوان تنظیم‌کننده احتمالی، در این کاهش نقش دارد (۳۱). به‌طوری‌که در نتایج تحقیقات دیگر هم مشاهده شد که TGF- $\beta$ 1 به‌عنوان یک فاکتور ضدتکثیری در هیپوکامپ موش‌های پیر افزایش می‌یابد و منجر به پیری سلولی می‌شود (۳۲،۳۱). با پیر شدن مغز، سلول‌های میکروگلیال از حالت استراحت به یک فنوتیپ فعال شده تعویض می‌شوند؛ به‌طوری‌که یک افزایش وابسته به سن، در تعداد میکروگلیا فعال در لوب تمپورال مزیال انسان، از جمله هیپوکامپ یافت شد (۳۳). میکروگلیای فعال شده ممکن است با بیان TGF- $\beta$ 1 (۳۴)، منجر به افزایش سطوح آن در هیپوکامپ شود (۳۱). از سوی دیگر التهاب مزمن مانند بعد از بروز ضایعه یا بیماری‌های عصبی، محیط متفاوتی را برای عواقب سیگنالینگ TGF- $\beta$ 1 فراهم می‌سازد؛ اگرچه عمل ضدالتهابی TGF- $\beta$ 1 می‌تواند نقش مهمی بر فرایندهای نروژنیک، مستقل از اثرات مستقیمش بر تولید سلول‌های پیش‌ساز نرون داشته باشد، ولی اختلال در تنظیم سیگنالینگ TGF- $\beta$ 1، به‌عنوان منبع بالقوه التهاب مزمن شناخته شده است و سیگنالینگ ناهب‌جا TGF- $\beta$ 1 و در نتیجه، تجمع میکروگلیای فعال شده در مناطق نروژنیک، نقش مهمی را در توسعه بیماری‌هایی مانند آلزایمر ایفا می‌کند (۳۵)؛ بنابراین، فعالیت بدنی ممکن

## نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر، بیانگر نقش مطلوب ورزش شنا و مصرف عصاره سیر یا ترکیبی از دو مداخله فوق در کاهش سطوح TGF- $\beta$ 1 و افزایش VEGF در بافت مغز پیر می‌باشد؛ بنابراین، هشت هفته مداخله‌های غیردارویی فوق ممکن است اثرات حمایتی در مقابل کاهش نورونز و آنژیوژنز ناشی از پیر شدن، از طریق افزایش VEGF و تنظیم منفی TGF- $\beta$ 1 اعمال نمایند.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه همکارانی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

- Mattson M P, Chan S L, Duan W. Modification of Brain Aging and Neurodegenerative Disorders by Genes, Diet, and Behavior. *Physiological Reviews* 2002;82: 637-672.
- Park DC, Yeo SG. Aging. *Korean J Audiol* 2013;1739-44.
- Bonaconsa M, Colavito V, Pifferi F, Aujard F, Schenker E, Dix S, et al. Cell clocks and neuronal networks: neuron ticking and synchronization in aging and aging-related neurodegenerative disease. *Current Alzheimer Research* 2013;10:597-608.
- Pineda JR, Daynac M, Chicheportiche A, Cebrian-Silla A, Sii Felice K, Garcia-Verdugo JM, et al. Vascular-derived TGF- $\beta$  increases in the stem cell niche and perturbs neurogenesis during aging and following irradiation in the adult mouse brain. *EMBO Molecular Medicine* 2013;5:548-62.
- Petcu EB, Smith RA, Miroiu RI, Opris MM. Angiogenesis in old-aged subjects after ischemic stroke: a cautionary note for investigators. *Journal of Angiogenesis Research* 2010;2:26.
- Muche A, Bigl M, Arendt T, Schliebs R. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA, VEGF receptor 2 (Flk-1) mRNA, and of VEGF co-receptor neuropilin (Nrp)-1 mRNA in brain tissue of aging Tg2576 mice by in situ hybridization. *International Journal of Developmental Neuroscience* 2015;43:25-34.
- Viboolvorakul S, Patumraj S. Exercise Training Could Improve Age-Related Changes in Cerebral Blood Flow and Capillary Vasculature through the Upregulation of VEGF and Enos. *BioMed Research International* 2014 ; 2014:1-12.
- Greenberg DA, Jin K. From angiogenesis to neuropathology. *Nature* 2005;438(7070):954-959.
- Mackenzie F, Ruhrberg K. Diverse roles for VEGF-A in the nervous system. *Development* 2012;139:1371-8010.
- Wyss-Coray T, Mucke L. Inflammation in neurodegenerative disease a double-edged sword. *Neuron* 2002;35:419-32.
- Gomes FC, Sousa Vde O, Romao L. Emerging roles for TGF-beta1 in nervous system development. *International Journal of Developmental Neuroscience* 2005;23:413-424.
- Buckwalter MS, Yamane M, Coleman BS, Ormerod BK, Chin JT, Palmer T, et al. Chronically increased transforming growth factor-beta1 strongly inhibits hippocampal neurogenesis in aged mice. *American Journal of Pathology* 2006;169:154-64.
- Bye N, Zieba M, Wreford NG, Nichols NR. Resistance of the dentate gyrus to induced apoptosis during ageing is associated with increases in transforming growth factor-beta1 messenger RNA. *Neuroscience* 2001;105:853-62.
- Singh-Manoux A, Hillsdon M, Brunner E, Marmot M. Effects of physical activity on cognitive functioning in middle age: evidence from the Whitehall II prospective cohort study. *American Journal of Public Health* 2005;95: 2252-2258.
- Brown AD, McMorris CA, Longman RS, Leigh R, Hill MD, Friedenreich CM, et al. Effects of cardiorespiratory fitness and cerebral blood flow on cognitive outcomes in older women. *Neurobiology of Aging* 2010;31:2047-57.
- Latimer CS, Searcy JL, Bridges MT, Brewer LD, Popovic J, Blalock EM, et al. Reversal of glial and neurovascular markers of unhealthy brain aging by exercise in middle-aged female mice. *PLoS One* 2011;6:e26812.
- Ding YH, Li J, Zhou Y, Rafols JA, Clark JC, Ding Y. Cerebral angiogenesis and expression of angiogenic factors in aging rats after exercise. *Current Neurovascular Research* 2006;3:15-23.
- Lloyd PG, Prior B M, Yang HT, Terjung RL. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *American*

می‌تواند منجر به مهار التهاب عصبی و آمیلوئیدوزن از طریق مهار فعالیت فاکتور هسته‌ای کاپایی (NF-kB) شود (۴۴). به‌علاوه براساس شواهد موجود یک ارتباط علی قوی و احتمالی بین بیماری‌های قلبی-عروقی و فاکتورهای خطرزا با بروز زوال‌شناختی و بیماری آلزایمر نیز وجود دارد (۲۱)؛ بنابراین، عصاره سیر به‌واسطه کاهش عوامل خطرزای قلبی-عروقی، کاهش استرس اکسایشی، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش التهاب متعاقب آن نیز می‌تواند منجر به تقویت آنژیوژنز و نورونز در بافت مغزی موش‌های پیر شود.

- Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology 2003; 284: H1668-H1678.
19. Fleenor BS, Marshall KD, Durrant JR, Lesniewski LA, Seals DR. Arterial stiffening with ageing is associated with transforming growth factor- $\beta$ 1-related changes in adventitial collagen: reversal by aerobic exercise. *The Journal of Physiology* 2010;588:3971-82.
  20. Kwak HB, Kim JH, Joshi K, Yeh A, Martinez DA, Lawler JM. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. *The FASEB Journal* 2011; 25:1106-17.
  21. Mathew BC, Biju RS. Neuroprotective Effects of Garlic A Review. *Libyan Journal of Medicine* 2008; 3: 23-33.
  22. Borek C. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *Journal of Nutrition* 2001;131:1010S-5S.
  23. Peng CC, Chen KC, Hsieh CL, Peng RY. Swimming Exercise Prevents Fibrogenesis in Chronic Kidney Disease by Inhibiting the Myofibroblast Transdifferentiation. *PLoS One* 2012; 7: 1-17.
  24. Seo DY, Kwak HB, Lee SR, Cho YS, Song IS, Kim N, et al. Effects of aged garlic extract and endurance exercise on skeletal muscle FNDC-5 and circulating irisin in high-fat-diet rat models. *Nutrition research and practice* 2014;8:177-82.
  25. Gaertner RF, Wyss-Coray T, Von Euw D, Lesne S, Vivien D, Lacombe P. Reduced brain tissue perfusion in TGF-beta 1 transgenic mice showing Alzheimer's disease-like cerebrovascular abnormalities. *Neurobiology of Disease* 2005;19:38-46.
  26. Pineda JR, Daynac M, Chicheportiche A, Cebrian-Silla A, Sii Felice K, Garcia-Verdugo JM, et al. Vascular-derived TGF- $\beta$  increases in the stem cell niche and perturbs neurogenesis during aging and following irradiation in the adult mouse brain. *EMBO Molecular Medicine* 2013;5:548-62.
  27. Gao P, Shen F, Gabriel RA, Law D, Yang E, Yang GY, et al. Attenuation of brain response to vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis and neurogenesis in aged mice. *Stroke* 2009;40:3596-600.
  28. E L, Burns JM, Swerdlow RH. Effect of high-intensity exercise on aged mouse brain mitochondria, neurogenesis, and inflammation. *Neurobiology of Aging* 2014;35:2574-83.
  29. Emsley JG, Mitchell BD, Kempermann G, Macklis JD. Adult neurogenesis and repair of the adult CNS with neural progenitors, precursors, and stem cells. *Progress in Neurobiology* 2005; 75:321-341.
  30. Artegiani B, Calegari F. Age-related cognitive decline: can neural stem cells help us?. *Aging (Albany NY)* 2012;4:176-86.
  31. Werry EL, Enjeti S, Halliday GM, Sachdev PS, Double KL. Effect of age on proliferation-regulating factors in human adult neurogenic regions. *Journal of Neurochemistry* 2010;115:956-964.
  32. Shetty A K, Hattiangady B, Shetty GA. Stem/progenitor cell proliferation factors FGF-2, IGF-1, and VEGF exhibit early decline during the course of aging in the hippocampus: role of astrocytes. *Glia* 2005;51:173-186.
  33. Nichols NR. Glial responses to steroids as markers of brain aging. *Developmental Neurobiology* 1999;40:585-601.
  34. Morgan TE, Nichols NR, Pasinetti GM, Finch CE. TGF-beta 1 mRNA increases in macrophage/microglial cells of the hippocampus in response to deafferentation and kainic acid-induced neurodegeneration. *Experimental Neurology* 1993;120:91-301.
  35. Kandasamy M, Reilmann R, Winkler J, Bogdahn U, Aigner L. Transforming Growth Factor-Beta Signaling in the Neural Stem Cell Niche: A Therapeutic Target for Huntington's Disease. *Neurology Research International* 2011; 2011:124256.
  36. Caraci F, Battaglia G, Bruno V, Bosco P, Carbonaro V, Giuffrida ML, et al. TGF-beta1 pathway as a new target for neuroprotection in Alzheimer's disease. *CNS Neuroscience & Therapeutics* 2011;17:237-249.
  37. Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *The Journal of Neuroscience* 2001;21:1628-1634.
  38. Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends in Neurosciences* 2007;30:464-7.
  39. Fabel K, Fabel K, Tam B, Kaufer D, Baiker A, Simmons N, et al. VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *European Journal of Neuroscience* 2003;18:2803-12.
  40. Lopez-Lopez C, LeRoith D, Torres-Aleman I. Insulin-like growth factor I is required for vessel remodeling in the adult brain. *proceedings of the national academy of sciences of the united states of america* 2004;101:9833-8 41.
  41. Saleem S, Ahmad M, Ahmad AS, Yousuf S, Ansari MA, Khan MB, et al. Behavioral and histologic neuroprotection of aqueous garlic extract after reversible focal cerebral ischemia. *Journal of Medicinal Food* 2006; 9:537-544.
  42. Ray B, Chauhan NB, Lahiri DK. Oxidative insults to neurons and synapse are prevented by aged garlic extract and S-allyl-L-cysteine treatment in the neuronal culture and APP-Tg mouse model. *J Neurochem*. 2011;117:388-402.
  43. Chung LY. The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide. *Journal of Medicinal Food* 2006;9:205-13.
  44. Chen W, Qi J, Feng F, Wang MD, Bao G, Wang T, Xiang M, Xie WF. Neuroprotective effect of allicin against traumatic brain injury via Akt/endothelial nitric oxide synthase pathway-mediated anti-inflammatory and anti-oxidative activities. *Neurochem Int*. 2014;68:28-37.
  45. Lin GH, Lee YJ, Choi DY, Han SB, Jung JK, Hwang BY, et al. Anti-amyloidogenic effect of thiacremonone through anti-inflammation in vitro and in vivo models. *International Journal of Alzheimer's Disease* 2012;29:659-76.



## Effect of swimming exercise and garlic extract consumption on some of growth factors involved in angiogenesis and neurogenesis in the brain tissue of old rats

Amir Hossien Slami<sup>1</sup>, Masoumeh Habibian<sup>2\*</sup>, Parvin Farzanegi<sup>3</sup>

1. M.Sc. - Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.
2. Assistant Professor - Department of Physical Education and Sports Sciences, Qaemshahar Branch, Islamic Azad University, Qaemshahar, Iran.
3. Associate Professor - Department of Physical Education and Sports Sciences, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

\*Corresponding Author e-mail: [habibian\\_m@yahoo.com](mailto:habibian_m@yahoo.com)

### Abstract

**Background and Objective:** Angiogenesis and Neurogenesis declines with aging whereas regular exercise and antioxidant supplements are associated with various physiological changes in the brain. Therefore, the aim of this study was to assess the effect of swimming exercise and garlic extract on the some of growth factors involved in angiogenesis and neurogenesis in the brain tissue of old rats.

**Materials and Methods:** In this research study, 35 sedentary aged male Wistar rats were randomly divided into 5 groups (7 rats per group) of control, saline, garlic, aerobic exercise, and garlic+exercise. The animals were exercised by swimming training at 3 min to 60 min per day, five days a week for 8 weeks. The extract of garlic (2.5 g/kg) was administered by gastric gavage to old rats. The rats were killed 72 h after the last treatments and the brain transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) level were evaluated by ELISA method. One-way analysis of variance was used for data analysis.

**Results:** The results showed that 8-week swimming training, garlic consumption and the combined intervention decreased brain TGF- $\beta$ 1 and increased VEGF level in aged rats ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that regular swimming training, garlic consumption and the combined intervention protects against age-related decline of angiogenesis and neurogenesis in the brain by up-regulation of VEGF and decreasing TGF- $\beta$ 1 levels in old rats.

**Keywords:** Brain, Neurogenesis, Swimming, Transforming growth factor  $\beta$ 1, Vascular endothelial growth factor