Original Article

Effect of Regular Aerobic Training and Garlic Extract Consumption on Plasma NO Levels and Tissue VEGF of the Soleus and Gastrocnemius Muscles in Elderly Rats

Mona Najar-Shams[1], Parvin Farzanegi[2*]

1- M.Sc., Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran
2- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

**Corresponding Address: P.O.Code: 4816119318, Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran*
Email: Parvin.farzanegi@gmail .com

Received: 06/Jan/2017, Accepted: 14/May/2017

Abstract

Objective: Elderly age is accompanied with reduced muscle strength and mass. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is the most important stimulant of angiogenesis in muscles which, by increasing blood flow to the muscles, causes muscle strength and endurance. Exercise training leads to increased nitric oxide (NO) and release of VEGF by raising the shear stress during proliferation of endothelial cells and the process of angiogenesis. Garlic also modulates blood flow. This study has assessed the effects of regular swimming training combined with the consumption of garlic extract on the levels of NO plasma and VEGF tissue of soleus slow-twitch and gastrocnemius fast-twitch muscles in aged rats.

Methods: Male aged rats (40-50 weeks) with an average weight of 250-300 g were randomly divided into 5 groups (n=7 rats per group) - control, saline, aerobic training, garlic, and aerobic training + garlic. The swimming training program was scheduled for 50 m daily, 3 times per week for 8 weeks. The groups that received supplements and supplementary training were given a daily dose by gavage of 1 ml/kg body weight of the garlic extract for 8 weeks. We collected tissue and blood samples 48 h after the last training session and after a 10-12 h fasting period. The amount of NO and VEGF were detected by colorimetry and ELISA, respectively.

Results: One-way ANOVA revealed that regular aerobic training increased plasma NO ($P=0.001$), VEGF of the soleus muscle tissue ($P<0.001$), and VEGF of the gastrocnemius muscle ($P=0.004$) in the aged rats. In the group that received garlic extract, there was a significant increase in NO levels ($P=0.001$), and VEGF in the soleus muscle tissue ($P=0.007$) and gastrocnemius muscle tissue ($P=0.015$). Combined training and garlic supplement significantly increased the plasma level of NO ($P<0.001$), and VEGF in the soleus muscle tissue ($P<0.001$) and gastrocnemius muscle tissue ($P=0.001$) compared to the control and saline groups.

Conclusion: Consumption of garlic extract alone and combined with aerobic training significantly increased plasma NO levels, and VEGF of the soleus and gastrocnemius muscle tissues. However, while the extents of increase in the training combined with garlic extract group was higher than that of the garlic group, there was no significant difference observed between the two groups. The lack of significant difference between these two groups might be due to the intensity and type of the training and would need additional research.

Keywords: Aerobic training, Garlic, Soleus and Gastrocnemius muscles, VEGF, NO

Pathobiology Research, Vol. 20 (2017-2018), No.1, Pages: 63-76

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

مقاله اصیل

اثر تمرین منظم هوازی و مصرف عصاره سیر بر سطوح نیتریک اکساید پلاسما و عامل رشد اندوتلیال عروقی بافت عضله نعلی و دوقلو در موش‌های صحرایی مسن

مونا نجارشمس[1]، پروین فرزانگی[2*]

۱- کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، ساری، کدپستی: ۴۸۱۶۱۱۹۳۱۸، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، دانشکده علوم انسانی
Email: farzanegi@gmail.com

دریافت مقاله: ۹۵/۱۰/۱۶ پذیرش مقاله: ۹۶/۰۲/۲۴

چکیده

هدف: دوران سالمندی با کاهش قدرت و توده عضلانی همراه است. عامل رشد اندوتلیال عروقی مهم‌ترین محرک رگ زایی در عضلات است که با افزایش خون رسانی موجب تقویت عضلات و استقامت بدن می‌شود. تمرین ورزشی با افزایش تنش برشی هنگام تکثیر سلول‌های اندوتیال و فرآیند رگ‌زایی باعث آزادشدن عامل رشد اندوتلیال عروقی و افزایش نیتریک اکساید می‌شود. سیر نیز موجب تعدیل جریان خون می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی اثر برنامه تمرینی منظم شنا به‌همراه مصرف عصاره سیر بر سطوح نیتریک اکساید پلاسما و عامل رشد اندوتلیال عروقی دو نوع عضله کند انقباض نعلی و تند انقباض دوقلوی موش‌های مسن بررسی شد.

مواد و روش‌ها: آزمودنی‌های این طرح پژوهشی را موش‌های صحرایی نر (۴۰-۵۰ هفته‌ای) نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم تشکیل دادند که به‌صورت تصادفی به ۵ گروه (هر گروه ۷ سر موش) کنترل، سالین، تمرین هوازی، سیر و تمرین هوازی+سیر تقسیم شدند. برنامه تمرینات شنا در ۸ هفته و هر هفته به‌مدت ۳ روز و هر روز ۶۰ دقیقه بود. گروه‌های دریافت‌کننده مکمل و تمرین مکمل، روزانه یک میلی‌لیتر عصاره سیر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌مدت ۸ هفته به‌صورت خوراکی (گاواژ) دریافت کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۰-۱۲ ساعت ناشتایی، خون‌گیری و بافت‌برداری انجام شد. میزان نیتریک اکساید به روش رنگ‌سنجی و میزان عامل رشد اندوتلیال عروقی به روش الایزا انجام شد.

نتایج: نتایج آنالیز تحلیل واریانس یک راهه نشان داد تمرین منظم هوازی منجر به افزایش میزان پلاسمایی نیتریک اکساید (P=۰/۰۰۱)، عامل رشد اندوتلیال عروقی بافت عضله نعلی (P<۰/۰۰۱) و عامل رشد اندوتلیال عروقی بافت عضله دوقلوی (P=۰/۰۰۴) موش‌های پیر شد. در گروه مکمل سیر نیز افزایش معنی‌دار میزان نیتریک اکساید (P=۰/۰۰۱)، عامل رشد اندوتلیال عروقی بافت عضله نعلی(P=۰/۰۰۷) و عامل رشد اندوتلیال عروقی بافت عضله دوقلو (P=۰/۰۱۵) نسبت به گروه‌های کنترل و سالین مشاهده شد. مداخله ترکیبی تمرین و مصرف مکمل سیر نیز به‌طور معنی‌داری سطوح پلاسمایی نیتریک اکساید (P<۰/۰۰۱)، عامل رشد اندوتلیال عروقی بافت عضله نعلی (P<۰/۰۰۱) و عامل رشد اندوتلیال عروقی بافت عضله دوقلو (P=۰/۰۰۱) را نسبت به گروه کنترل و سالین افزایش داد.

نتیجه‌گیری: مصرف مکمل سیر به تنهایی و همراه با تمرین هوازی موجب افزایش معنی‌دار نیتریک اکساید سرم و عامل رشد اندوتلیال عروقی بافت عضلات نعلی و دوقلو شد، ولی با این که میزان افزایش در گروه تمرین+مکمل سیر نسبت به گروه سیر بیشتر بود، اختلاف دو گروه معنی‌دار نبود. معنی‌دار نبودن اختلاف این دو گروه ممکن است به شدت و نوع تمرین مربوط باشد و نیاز به تحقیق بیشتر در این زمینه احساس می‌شود.

کلیدواژگان: تمرین هوازی، سیر، عضلات نعلی و دوقلو، عامل رشد اندوتلیال عروقی، نیتریک اکساید

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶، صفحات: ۶۳-۷۶

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

مقدمه

کاهش عملکرد عصبی عضلانی در دوران سالمندی با از دست دادن قدرت و توده عضلانی، استقامت قلبی عروقی و تحرک مفصلی همراه است [۱]. عضلات اسکلتی از ارکان مهم فعالیت و حرکت است و در تعامل با دیگر اندام نقش مهمی را در زندگی ایفا می‌کند به شکلی که نقص در عملکرد این بافت می‌تواند موجب ایجاد اختلال در فعالیت‌های افراد مختلف شود [۲]. مهم‌ترین عامل رگ‌زایی عامل رشد اندوتلیال عروق (Vascular endothelial growth factor: VEGF) است. VEGF یک گلیکوپروتئین همودایمریک پایه‌ای متصل به هپارین با وزن مولکولی ٤٥٠٠ دالتون است که برای تمایز سلول‌های اندوتلیال و برای جوانه زدن مویرگ‌های جدید از عروق قبلی (آنژیوژنزیس: Angiogenesis) طی رشد و توسعه شبکه مویرگی ضروری است [۳]. محققان نشان داده‌اند که VEGF به‌وسیله عضلات اسکلتی نیز تولید شده و می‌تواند وارد جریان خون شود [٤]. این عامل به مقدار زیاد درون کیسه‌هایی در فیبرهای عضلانی ذخیره شده است [٥]. VEGF مهم‌ترین عامل رشدی درگیر در فرآیند آنژیوژنزیس است [٦] و در پاسخ به محرک‌هایی مانند هیپوکسی و تنش برشی (Shear stress) (نیروی همودینامیکی) ناشی از اصطکاک جریان خون با دیوارهٔ عروقی از سلول‌های آندوتلیالی ترشح می‌شود. تکثیر، تمایز و مهاجرت سلول‌های آندوتلیال مویرگی که از طریق مجموعه‌ای از عامل‌های رشدی از جمله VEGFصورت می‌گیرد لازمه تشکیل عروق جدید است [۷]. مسیر VEGF/eNOS (VEGF/Endothelial nitric oxide synthase) سبب آبشار پیام رسانی در سلول‌های اندوتلیال می‌شود که در نهایت تولید نیتریک اکساید (Nitric Oxide: NO) را تحریک می‌کند [۸]. NO گردش خون را به سمت عضلات تسریع کرده و به تبع آن، خون نیز هورمون‌های آنابولیک (Anabolic hormones) و مواد مغذی را در هنگام تمرین به عضلات می‌رساند و نتیجه افزایش این عمل، افزایش پمپاژ خون در عضله، افزایش اندازه عضله و افزایش استقامت بدن است [۹]. ازطرف دیگر؛ NO یک گشادکننده قوی عروق است که موجب شل شدن عضلات صاف جدار عروق می‌شود [۱۰]. این ماده از سلول‌های پوششی جدار داخلی رگ‌ها (سلول‌های اندوتلیوم) رها شده و یک ماده واسطه‌ای مهم در انواع اعمال فیزیولوژیک بدن مانند تنظیم عمومی مقاومت عروقی و فشار خون به شمار می‌رود [۱۱]. علاوه بر این؛ NO عامل مهمی در ایجاد رگ‌زایی است و از راه تنش برشی نیز در اندوتلیال آزاد می‌شود. افزایش تنش برشی هنگام تکثیر سلول‌های اندوتیال و فرآیند رگ‌زایی باعث آزادشدن VEGF و افزایش NO می‌شود [۱۲].

تانگ (Tang) و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که با انجام ورزش‌های استقامتی بیان ژن و میزان VEGF بافت‌هایی نظیر ریه، عضله و مغز افزایش می‌یابد [۱۳]. فریزبی (Frisbee) و همکاران (۲۰۰٦) بیان کردند که افزایش NO تولید شده در پاسخ به تمرینات ورزشی، میزان VEGF ترشحی از سلول‌های اندوتلیوم را افزایش می‌دهد و این امر در نهایت منجر به افزایش چگالی مویرگی می‌شود. از طرفی دیگر؛ افزایش تنش برشی طی تمرینات ورزشی می‌تواند یکی از علل افزایش رگ‌زایی باشد [١٤]. به‌دنبال فعالیت‌های بدنی جریان خون افزایش می‌یابد و از طریق افزایش محرک‌های تولید عوامل اندوتلیالی، بر مقاومت شریانچه‌های عضلات اسکلتی تأثیر می‌گذارد و باعث تولید NO می‌شود [۱۵]. سیر یکی از گیاهانی است که در طول تاریخ تمدن برای درمان بیماری‌های مرتبط با پیری استفاده می‌شود. نقش سیر در جلوگیری از بیماری مربوط به سن به‌طور گسترده در طول ۱۰–۱۵ سال گذشته بررسی شده است. سیر دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی است [١٦] و باعث کاهش چربی خون، جلوگیری از تنگ شدن عروق و مشکلات قلبی عروقی، کاهش قند، فشار و غلظت خون می‌شود [۱۷]. همچنین مشخص شده است مصرف سیر موجب کاهش فشار خون

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

کلیه و کاهش رهاسازی و تعدیل NO در کلیه و به این ترتیب موجب کاهش آسیب‌های عروقی کلیه می‌شود. سیر بر قطر عروق تأثیر می‌گذارد و جریان خون به سرخرگچه‌ها و مویرگ‌ها را افزایش می‌دهد [۱۸]. تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت‌های ورزشی مانند شنا این توانایی را دارد که دفاع ضد اکسایشی بدن را ارتقا دهد و بیان VEGF را در حد مفید آن افزایش دهد [۱۹، ۲۰]. از طرفی نشان داده شده است که ویژگی تارهای عضلانی در حالت استراحت بر میزان VEGF مؤثر است [۲۱]. اما بین تأثیر تمرین ورزشی بر میزان VEGF عضلات مختلف در مطالعات پیشین نتایج متناقضی وجود دارد [۲۲-۲٤]. با توجه به نتایج تحقیقات متعدد و اهمیت تمرین ورزشی و مصرف سیر در درمان بسیاری از بیماری‌ها، این مطالعه با هدف بررسی اثر برنامه تمرینی منظم شنا به‌همراه مصرف عصاره سیر بر سطوح NO پلاسما و VEGF عضله کند انقباض نعلی و تند انقباض دوقلوی موش‌های مسن انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر طی نامه به شماره ۵۱٤/۷۷/ف مورخ ۹٤/۱۰/٦ به تأیید کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سازی رسیده است. آزمودنی‌های این طرح پژوهشی را موش‌های صحرایی نر (٤۰-۵۰ هفته‌ای) نژاد ویستار (Wistar) با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم تشکیل دادند. این حیوانات در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف به ابعاد ۱۵×۲٦/۵×٤۲، دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵±۵۵ درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب نگهداری شدند. همچنین حیوانات طی پژوهش از غذای پلت ساخت شرکت بهپرورکرج روزانه به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن (با توجه به وزن‌کشی هفتگی) تغذیه شدند و به‌صورت آزاد از طریق بطری‌های ویژه به آب لوله‌کشی شهر دسترسی داشتند. آزمودنی‌های گروه‌های تمرینی قبل از شروع تمرین اصلی، به‌مدت یک هفته و پنج روز هر بار به‌مدت پنج دقیقه به‌منظور آشنایی با آب تمرین داده شدند. پس از آشنایی آزمودنی‌ها با تمرین شنا، به‌صورت تصادفی به ۵ گروه (هر گروه۷ سر موش) کنترل، سالین، تمرین هوازی، سیر و تمرین هوازی+سیر تقسیم شدند. به گروه کنترل هیچ دارو یا مکملی داده نشد. ولی گروه سالین به اندازه گروه‌های سیر و تمرین هوازی+سیر، سالین دریافت کردند. برنامه تمرینی اصلی به‌صورت تمرینات شنا در ۸ هفته و هر هفته به‌مدت ۳ روز و هر روز ٦۰ دقیقه بود [۲۲]. دمای آب ۲±۳۲ درجه سانتی‌گراد درنظر گرفته شد. همچنین پنج دقیقه زمان قبل و بعد از تمرین برای گرم و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد. برای تهیه عصاره سیر، در ابتدا سیر کهنه از بازار تهیه، سپس تمیز و خرد شد. بعد در دما و رطوبت معمولی به‌مدت سه ماه مانده و به روش خیساندن (Maceration) عصاره‌گیری شد. برای عصاره‌گیری، ابتدا در یک بالن یک لیتری میزان ۵۰ گرم از سیر خرد شده ریخته شد و به نسبت ۱ به ۳ متانول به آن اضافه و روی دستگاه تکان‌دهنده به‌مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد. سپس عصاره حاصل توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف و روی تفاله باقی‌مانده، متانول ریخته شد. بعد از ۲٤ ساعت دوباره صاف و به عصاره اول اضافه شد. بعد از آن عصاره در دستگاه تقطیر در خلا در دمای ۵۰ درجه و دور چرخش ۷۰ تقطیر شد، تا زمانی که حجم باقی‌مانده به یک پنجم حجم اولیه رسید. در این حالت مخزن عصاره، از دستگاه جدا و عصاره باقی‌مانده بعد از سرد شدن، سه مرتبه و هر بار با حجم ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم جدا شد. باقی‌مانده در ظرف پتری با وزن معلوم ریخته و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون خشک شد. بعد از خشک شدن عصاره، توزین شد. سپس هر ۱/٤ گرم پودر سیر با ٥٦ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. گروه‌های دریافت‌کننده مکمل و تمرین مکمل، روزانه یک میلی‌لیتر عصاره محلول سیر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌مدت ۸ هفته به‌صورت خوراکی (Gavaj) دریافت کردند [۱٦]. گروه‌های دریافت‌کننده سالین هم، به میزان مکمل،

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

سالین دریافت کردند. ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۰-۱۲ ساعت ناشتایی، خون‌گیری و بافت‌برداری انجام شد. موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (Ketamine) (۳۰-۵۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم) و زایلازین (Xylazine) (۳-۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شده بافت عضله نعلی و دوقلو بلافاصله جدا شده و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری سطوح NO و VEGF نگهداری شد. نمونه‌گیری خونی توسط سرنگ آغشته به هپارین به‌طور مستقیم از قلب گرفته شد و برای استخراج پلاسما توسط سانتریفوژ یخچال‌دار، به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس بافت عضله نعلی و دوقلو پس از پودر شدن (ساییده شدن) در نیتروژن مایع، در بافر پروتئاز [PBS (Phosphate buffered saline)، ٧/٤ pH] مخلوط شد. سطوح پلاسمایی NO با تبدیل NO به متابولیت‌های پایدار آن (احیا یون‌های نیترات به نیتریت از طریق نیترات ردوکتاز) و اندازه‌گیری غلظت نیترات/نیترت با استفاده از روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. میزان VEGF به روش الایزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELIZA) با استفاده از کیت‌های ویژه و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده با حساسیت۵/۰۱ نانوگرم بر لیتر انجام شد.

روش‌های آماری

بعد از تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌های بافتی، توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد و برای تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک (Shapiro wilk test) و بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین (Levene's test) استفاده شد. همچنین برای بررسی تغییرات معنی‌داری هریک از متغیرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف، از روش آنالیز واریانس یک راهه (one-way Analysis of Variance: ANOVA) و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی توکی (Tukey test) برای تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد.

نتایج

یافته‌ها نشان داد، تمرین منظم هوازی منجر به افزایش سطح پلاسمایی NO (P=۰/۰۰۱)، افزایش سطح VEGF بافت عضله نعلی (P<۰/۰۰۱) و دوقلو (P=۰/۰۰٤) نسبت به گروه کنترل می‌شود. در گروه مکمل سیر نیز سطح پلاسمایی NO (P=۰/۰۰۱)، سطح VEGF بافت عضله نعلی (P=۰/۰۰۷) و دوقلو (P=۰/۰۱۵) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری مشاهده شد.

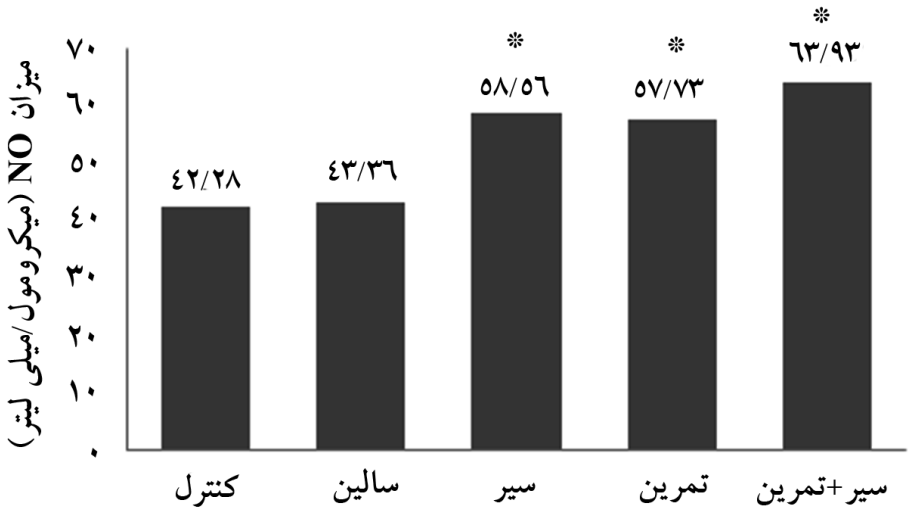
همچنین براساس یافته‌ها، مداخله ترکیبی تمرین و مصرف مکمل سیر نیز به‌طور معنی‌داری سطوح پلاسمایی NO (P<۰/۰۰۱)، سطح VEGF بافت عضله نعلی (P<۰/۰۰۱) و دوقلو (P=۰/۰۰۱) را نسبت به گروه کنترل و سالین افزایش داد. شکل ۱ میانگین میزانNO سرم و شکل ۲ میانگین میزان VEGF بافت عضلات نعلی و دوقلو را در گروه‌های تحقیق نشان می‌دهد.

شکل‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهند که میزانNO پلاسمایی موش‌های پیر سه گروه تجربی (گروه‌های تمرین، سیر و سیر+تمرین) نسبت به گروه‌های کنترل و سالین به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. میزان NO گروه سیر+تمرین نیز نسبت به گروه‌های تمرین و سیر افزایش یافت ولی این افزایش معنی‌دار نبود.

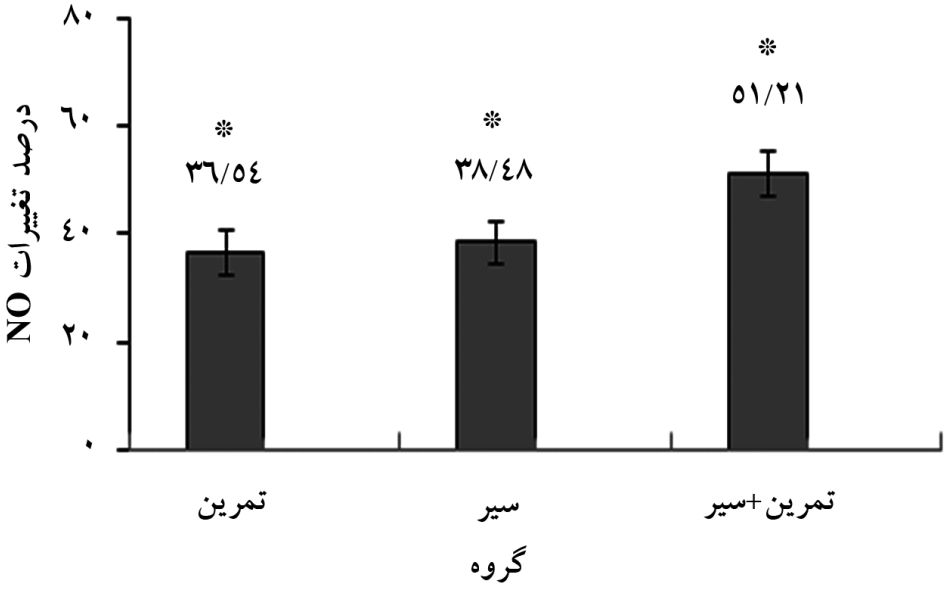
شکل‌های۳ تا ۵، نشان می‌دهند سطوحVEGF بافت عضلات نعلی و دوقلو موش‌های پیر هر سه گروه تجربی (گروه‌های تمرین، مکمل و ترکیبی) نسبت به گروه‌های کنترل

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

افزایش معنی‌داری یافت ولی بین میـانگین‌هـای ایـن دو نـوع عضله در تمامی گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.

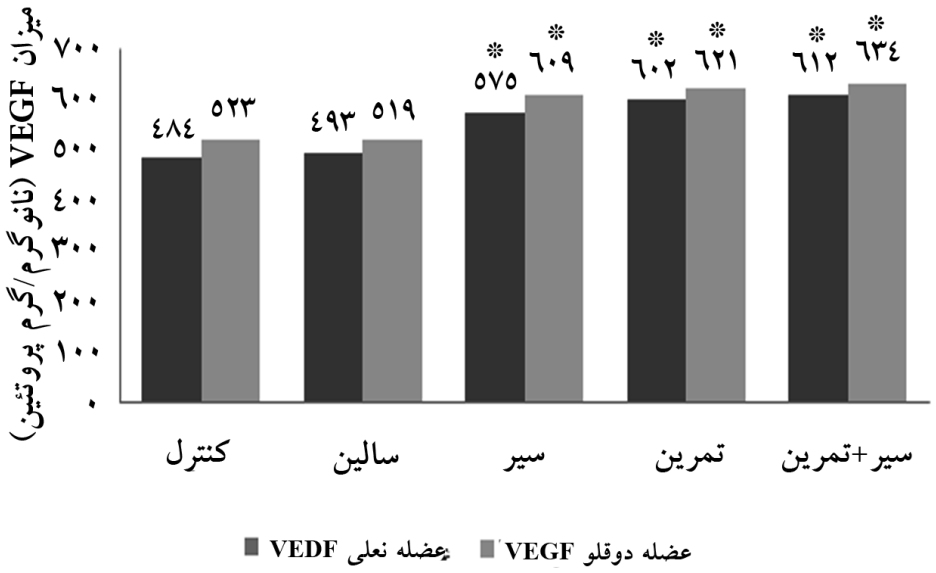


شکل ۱ مقایسه میانگین میزان NO پلاسمایی در گروه‌های مختلف تحقیق؛ *معنی‌داری نسبت به گروه‌های سالین و کنترل

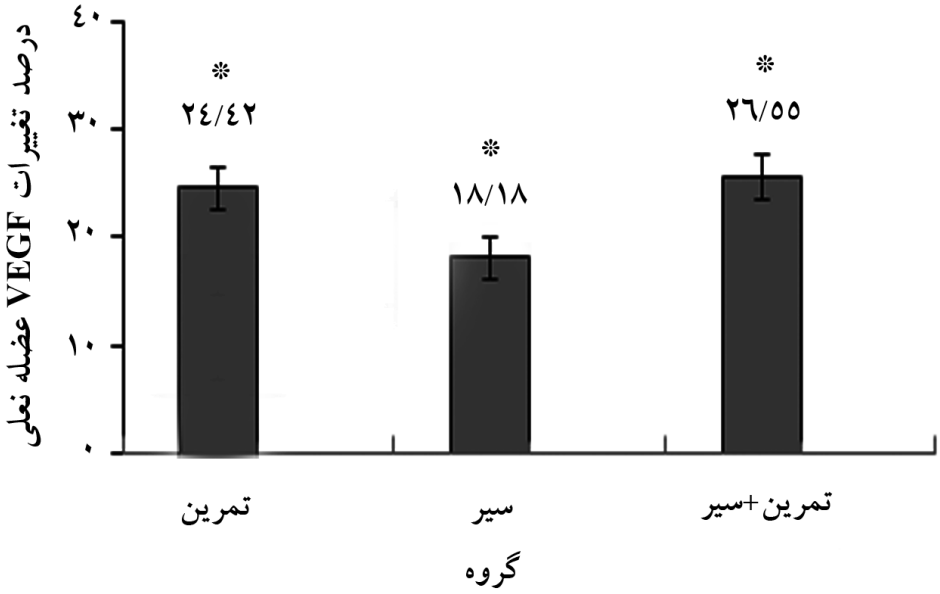


شکل ۲ مقایسه درصد تغییرات سطوح NO پلاسمایی گروه‌های تحقیق نسبت به گروه کنترل؛ *: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

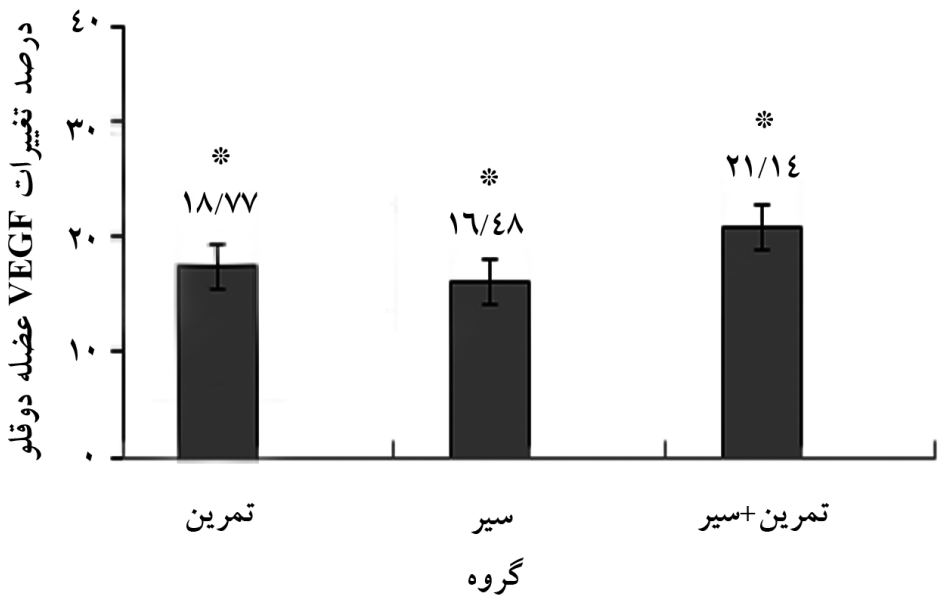


شکل ۳ مقایسه میانگین سطوح VEGF بافت عضلات نعلی و دوقلو در گروه‌های مختلف؛ ❊: معنی‌داری نسبت به گروه‌های سالین و کنترل



شکل ٤ مقایسه درصد تغییرات سطوح VEGF بافت عضله نعلی گروه‌های تحقیق نسبت به گروه کنترل؛ ❊: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]



شکل ۵ مقایسه درصد تغییرات سطوح VEGF بافت عضله دوقلو گروه‌های تحقیق نسبت به گروه کنترل؛ *: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

بحث

مطالعات نشان می‌دهند احتمال بروز بیماری قلبی-عروقی، دیابت و انواع سرطان‌ها با افزایش سن به‌صورت تصاعدی افزایش می‌یابد [۲۵، ۲۶]. به‌نظر می‌رسد این بیماری های وابسته به سن، با افزایش استرس اکسیداتیو (Oxidative stress)، التهاب و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (Apoptosis) همراه باشد [۲۶]. بسیاری از محققان بر این باورند استرس اکسیداتیو با فعال کردن عامل هسته‌ای کاپا B (Nuclear factor kappa B: NF-kB) و عامل رونویسی پروتئین فعال کننده نوع ۱ (Activator protein 1: AP-1) منجر به رونویسی ژن عوامل رشدی عامل تبدیل رشد (Transforming growth factor beta: TGF-β) و VEGF و سایتوکین‌های التهابی مانند TNF-α (Tumour Necrosis Factor alpha)، IL-1 (Interleukin 1) و IL-8 می‌شود [۲۷]. این عوامل رشدی هیپرتروفیک (Hypertrophic) و فیبروژنیک (Fibrogenic) در هیپرتروفی (Hypertrophy) سلولی و افزایش سنتز کلاژن مشارکت دارند. NO یکی از واسطه های اصلی در مهاجرت سلول‌های اندوتلیال در پاسخ به عامل رشد اندوتلیال عروقی است که هنگام فعالیت هوازی بلند مدت، با افزایش در جریان خون بالا می‌رود [۲۸].

درهمین راستا، اولین یافته پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین منظم شنا منجر به افزایش سطح پلاسمایی NO به میزان ۳۶/۵۴ درصد، نسبت به گروه کنترل می‌شود. همچنین مصرف سیر و ترکیب تمرین-سیر به‌ترتیب به میزان ۳۸/۴۸ درصد و ۵۱/۲۱ درصد با افزایش سطوح NO در موش های مسن همراه بود. با وجود افزایش سطح سرمی NO متعاقب هشت هفته مداخله، تفاوتی بین گروه‌های مداخله در تأثیرگذاری بر افزایش NO وجود ندارد. این بدان معناست که مداخله ترکیبی نتوانست اثر مطلوب‌تری نسبت به مداخله تمرین و مکمل به تنهایی داشته باشد. به‌نظر می‌رسد، اگر چه مدت و نوع تمرین و دوز مکمل در این مطالعه، بر اساس مطالعات پیشین انتخاب شد ولی برای مشاهده آثار رگ‌زایی مطلوب مداخله ترکیبی، نیاز به تمرینات شدیدتر و دوز بالاتر مکمل است. با این حال یافته‌های مطالعه حاضر تا حدودی

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

تأییدی بود بر نتایج مطالعه پیرسون (Pearson) و همکاران (۲۰۱٤) که نشان دادند متعاقب فعالیت ورزشی، افزایش قابل توجهی درسطح NO بافت عضلانی موش‌های پیر به‌وجود می آید و این موضوع با افزایش نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیال عضله در ارتباط بود [۲۹]. NO آثار بسیار مهمی بر سیستم قلبی-عروقی ازجمله بهبود عملکرد اندوتلیوم و افزایش آنژیوژنزیس دارد. علاوه بر آن نقش مهمی در مهار مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، افزایش تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال دارد و همچنین ساخت و رهایش VEGF را از سلول‌های عروقی افزایش می‌دهد و ارتباط متقابلی بین آنها وجود دارد، به‌طوری که VEGF بیان نیتریک اکساید سنتتاز را افزایش می‌دهد [۳۰، ۳۱].

یافته بعدی تحقیق حاضر نشان داد سطح VEGF بافت عضله نعلی و دوقلو به‌ترتیب به میزان ۲٤/٤۲ درصد و ۱۸/۷۷ درصد پس از هشت هفته تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. همچنین مصرف سیر و ترکیب تمرین-سیر هم موجب افزایش معنی‌دار سطح VEGF به‌ترتیب ۱۸/۱۸ درصد و٤۸ /۱٦ درصد در عضله نعلی، ۲٦/۵۵ درصد و ۲۱/۱٤ درصد در عضله دوقلو شد. ولی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تمرین، مکمل و ترکیبی مشاهده نشد (P>۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد هایپوکسی (Hypoxia) ناشی از تمرین شنا، موجب افزایش بیان ژن VEGF می‌شود. به‌طوری که ممکن است در اثر سازگاری با این نوع تمرینات به‌مدت هشت هفته، تنظیم افزایشی در VEGF اتفاق بیافتد که یکی از مهم‌ترین و قوی‌ترین محرک‌هایی است که رگ‌زایی عضله اسکلتی را موجب می‌شود. همچنین طبق شواهد، از دلایل احتمالی افزایش VEGF متعاقب تمرین شنا، ممکن است تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد ناشی از دست و پا زدن موش‌ها هنگام شنا باشد. از طرف دیگر؛ به‌نظر می‌رسد ترکیب دو مداخله تمرین و سیر نسبت به اعمال هر مداخله به تنهایی عاملی بالقوه برای افزایش بیشتر رادیکال‌های آزاد باشد. در کل می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت خود به تنهایی عامل افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود که این افزایش، موجب بیشتر شدن تولید VEGF درتحقیق حاضر شده است و در مقام مقایسه، مداخله ترکیبی در تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد مؤثرتر است و عامل افزایش بیشتر VEGF نسبت به شرایط تمرین تنها است. همچنین پیش‌تر، همان‌طور که گفته شد مهم‌ترین عامل درگیر در آنژیوژنزیس کمبود اکسیژن و تولید محرک وابسته به هایپوکسی است. بنابراین به‌نظر می‌رسد افزایش بیان VEGF درمطالعه حاضر، از طریق چند سازوکار صورت گرفته باشد: ۱) ایسکمی (Ischemia) ناشی از انجام فعالیت ورزشی، موجب افزایش عامل قابل القای هایپوکسی (Hypoxia inducible factor: HIF) می‌شود. این عامل با اثر گذاری بر روی بخشی از ژن VEGFباعث افزایش بیان آن می‌شود. ۲) همچنین تجمع لاکتات و آدنوزین ناشی از اجرای تمرین، از طریق فعال‌سازی گیرنده A۲، موجب افزایش غلظت cAMP VEGF می‌شود [۳۲].

از سوی دیگر؛ اولفرت (Olfert) و همکاران نشان داده‌اند که محدود کردن فعالیت VEGFدر عضله دوقلو باعث کاهش ۵۰ درصدی نسبت مویرگ به تار عضلانی و کاهش ۸۱ درصدی ظرفیت استقامتی می‌شود [۳۳]. ولی تزریق VEGF به عضله‌ای که دچار ایسکمی شده باعث افزایش دانسیته مویرگی و بیان میوگلوبین می‌شود که به معنی افزایش ظرفیت اکسیژنی عضله است [۳٤]. بنابراین وجود VEGF در تنظیم مویرگ‌های عضله به‌ویژه در ورزش ضروری است و حتی تمرین هوازی با شدت متوسط نیز باعث افزایش سطح VEGF می‌شود [۳۵]. همچنین بررسی‌ها روی سه عضله کند انقباض(نعلی)، تند انقباض(سه سر بازو) و ترکیبی از هر دو نوع عضله(پهن جانبی) انسان نشان می‌دهد که میزان پروتئین VEGF در حالت استراحت و در شرایط طبیعی، در عضله نعلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از عضلات سه سر بازو و پهن جانبی است؛ یعنی تفاوت ویژگی تارهای عضله در بیان VEGF مؤثر است [۲۱].

مشابه با نتایج مطالعه حاضر، بررسی یافته‌های پیشین در

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

مورد عضلات کند انقباض نشان می‌دهد که تمرینات هوازی [۳۶، ۳۷] و مقاومتی [۲۳] میزان VEGF را در عضله نعلی افزایش می‌دهند. ولی در مورد عضلات تند انقباض و مختلط نتایج تا حدودی متفاوت است. به‌طوری که نتایج یک مطالعه نشان داد تمرینات متوسط استقامتی و متناوب سرعتی ظرفیت eNOS عروق ریز عضله پهن جانبی را در افراد کم تحرک افزایش می‌دهد. این افزایش ۱۴ درصد در گروه تمرین استقامتی و ۳۶ درصد در گروه متناوب سرعتی ایجاد شد. و مویرگ‌زایی در هر دو گروه افزایش یافت [۲۲]. ولی کریمیان و دیگران، اثر تمرینات مقاومتی را روی عضله نعلی و تاکننده دراز شست پا (تند انقباض) بررسی و مشاهده کردند که رگ‌زایی در عضله نعلی موش‌های سالم افزایش یافت ولی در عضله تند انقباض تاکننده دراز شست پا تفاوتی ایجاد نشد [۲۳]. گوین (Gavin) و همکاران (۲۰۰۷) نیز پاسخ بیان ژن VEGF در عضلات نعلی، کف پایی و دوقلو به فعالیت مقاومتی و هایپوکسی در موش‌های جوان و سالمند را بررسی کردند. نتایج نشان داد که میزان بیان ژن VEGF قبل از تمرین در هر سه نوع عضله در موش‌های پیر در مقایسه با جوان بیشتر بود؛ با این حال بیان ژن VEGF به تمرین و هایپوکسی در هر دو گروه جوان و سالمند افزایش یافت [۲۴]. تفاوت این یافته‌ها با پژوهش حاضر احتمالاً به‌دلیل عواملی مانند هایپوکسی، شدت و مدت تمرین ورزشی، تنش برشی [۱۶] و ویژگی‌های تار عضلانی [۲۱] است که بر بیان ژن VEGF تأثیر می‌گذارند.

ازسوی دیگر؛ علاوه بر فعالیت ورزشی، محققان استفاده از مکمل‌های گیاهی را برای کاهش آثار مخرب رادیکال‌های آزاد در روند پیری پیشنهاد کرده‌اند [۳۷]. سیر یکی از گیاهان دارویی است که حاوی ماده‌ای طبیعی به نام آلیسین (Allicin) است که دارای خاصیت ضد باکتری بوده که برای درمان بسیاری از مشکلات از آلرژی گرفته تا التهاب کارآیی دارد [۱۷]. همچنین اخیراً مشخص شده که عصاره سیر فعالیت رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند. دو ترکیب اصلی سیر شامل: S-آلیل سیستئین و S-آلیل مرکاپتو-L-سیستئین دارای بیشترین خاصیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد است [۳۸]. همچنین سیر باعث افزایش تولید گلوتاتیون (Glutathione) می‌شود، گلوتاتیون یک اسید آمینه‌ای است که در بدن تولید و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان بسیار قوی است [۳۹]. به نظر می‌رسد در تأیید این فرضیه، بر اساس یافته های مربوط به مداخله سیر در مطالعه حاضر، مصرف سیر به تنهایی یا همراه با تمرین موجب افزایش معنی‌دار NO سرم و VEGF بافت عضلات نعلی و دوقلو شد. هر چند بین گروه‌های مداخله تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، ولی به‌نظر می‌رسد دوز مکمل و مدت مصرف به تنهایی برای کاهش استرس اکسیداتیو کافی بوده و تعامل آن با ورزش نمی‌تواند آثار مطلوب مصرف مکمل به‌طور مجزا را کم رنگ جلوه دهد. در همین راستا، نتایج مطالعه تاکاشیما (Takashima) و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد مصرف سیر با افزایش تحریک تولید NO، موجب گشادشدگی آئورت می‌شود [۴۰]. استرس اکسیداتیو موجب فعال شدن NF-kB و افزایش بیان ژن iNOS و تولید NO می‌شود. به طوری که افزایش NO در ابتدای مسیر شروع آبشار پیام‌رسانی مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، می‌تواند ساختار و عملکرد طبیعی بافت‌ها را مختل کند، اما مصرف عصاره سیر با کاهش سطح نیتریت می‌تواند موجب کاهش این اختلال باشد [۴۱].

به‌طور کلی نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد اگر چه انجام تمرینات هوازی منظم و مصرف عصاره سیر به‌طور مجزا به‌عنوان یک روش درمانی غیر دارویی باعث افزایش NO سرم و شاخص رگ‌زایی عضلات نعلی و دوقلو در موش‌های پیر شد، اما اثر بخشی ترکیب تمرین و مکمل به مراتب بیشتر از آثار جداگانه هر یک از این دو روش درمانی بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه خانم منا نجارشمس دانشجوی کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزش دانشگاه

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

آزاد اسلامی واحد ساری است که بـا هزینـه شخصـی انجـام شده است.

منابع

[1] Rana SV. Metals and apoptosis: recent developments. J Trace Elem Med Biol 2008; 22(4): 262-84.

[2] Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. FASEB J 2006; 20(6): 791-3.

[3] Iversen N, Krustrup P, Rasmussen HN, Rasmussen UF, Saltin B, Pilegaard H. Mitochondrial biogenesis and angiogenesis in skeletal muscle of the elderly. Exp Gerontol 2011; 46(8): 670-8.

[4] Hellsten Y, Rufener N, Nielsen JJ, Høier B, Krustrup P, Bangsbo J. Passive leg movement enhances interstitial VEGF protein, endothelial cell proliferation, and eNOS mRNA content in human skeletal muscle. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2008; 294(3): R975-82.

[5] Hoier B, Prats C, Qvortrup K, Pilegaard H, Bangsbo J, Hellsten Y. Subcellular localization and mechanism of secretion of vascular endothelial growth factor in human skeletal muscle. FASEB J 2013; 27(9): 3496-504.

[6] Kraus RM, Stallings HW 3rd, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. J Appl Physiol (1985) 2004; 96(4): 1445-50.

[7] Egginton S. Invited review: activity-induced angiogenesis. Pflugers Arch 2009; 457(5): 963-77.

[8] Amaral SL, Sanchez LS, Chang AJ, Rossoni LV, Michelini LC. Time course of training-induced microcirculatory changes and of vegf expression in skeletal muscles of spontaneously hypertensive female rats. Braz J Med Biol Res 2008; 41(5): 424-31.

[9] Tesauro M, Thompson WC, Rogliani P, Qi L, Chaudhary PP, Moss J. Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97(6): 2832-5.

[10] Gentile C, dos Remedios C, Drake C, Davies M. The role of the VEGF/eNOS signaling pathway in cardiovascular development: a novel target to advance cardiovascular regeneration. FASEB J 2014; 28(1 Suppl): 1078.11.

[11] Ban CR, Twigg SM. Fibrosis in diabetes complications: pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers. Vasc Health Risk Manag 2008; 4(3): 575-96.

[12] Schiller M, Javelaud D, Mauviel A. TGF-beta-induced SMAD signaling and gene regulation: consequences for extracellular matrix remodeling and wound healing. J Dermatol Sci 2004; 35(2): 83-92.

[13] Tang K, Xia FC, Wagner PD, Breen EC. Exercise-induced VEGF transcriptional activation in brain, lung and skeletal muscle. Respir Physiol Neurobiol 2010; 170(1): 16-22.

[14] Frisbee JC, Samora JB, Peterson J, Bryner

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

R. Exercise training blunts microvascular rarefaction in the metabolic syndrome. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2006; 291(5): H2483-92.

[15] Joyner MJ, Dietz NM. Nitric oxide and vasodilation in human limbs. J Appl Physiol (1985) 1997; 83(6): 1785-96.

[16] Seo DY, Lee S, Figueroa A, Kwak YS, Kim N, Rhee BD, Ko KS, Bang HS, Baek YH, Han J. Aged garlic extract enhances exercise-mediated improvement of metabolic parameters in high fat diet-induced obese rats. Nutr Res Pract 2012; 6(6): 513-9.

[17] Colín-González AL, Santana RA, Silva-Islas CA, Chánez-Cárdenas ME, Santamaría A, Maldonado PD. The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract- and S-allylcysteine-induced protection. Oxid Med Cell Longev 2012; 2012: 907162.

[18] Al-Qattan KK, Thomson M, Al-Mutawa'a S, Al-Hajeri D, Drobiova H, Ali M. Nitric oxide mediates the blood-pressure lowering effect of garlic in the rat two-kidney, one-clip model of hypertension. J Nutr 2006; 136(3 Suppl): 774S-776S.

[19] Farzanegi P, Habibian M, Alinejad H. The Combined Effect of Regular Aerobic Exercise with Garlic Extract on Renal Apoptosis Regulatory Factors in Aged rats with Chronic Kidney Disease. Arak Medical University Journal 2016; 19(3): 62-70. (Persian)

[20] Slami AH, Habibian M, Farzanegi P. 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. Daneshvar Med 2016; 23(121): 13-21. (Persian)

[21] Mounier R1, Pedersen BK, Plomgaard P. Muscle-specific expression of hypoxia-inducible factor in human skeletal muscle. Exp Physiol 2010; 95(8): 899-907.

[22] 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(6): e37388.

[23] Karimian J, Khazaei M, Shekarchizadeh P. Effect of Resistance Training on Capillary Density Around Slow and Fast Twitch Muscle Fibers in Diabetic and Normal Rats. Asian J Sports Med 2015; 6(4): e24040.

[24] Gavin TP, Drew JL, Kubik CJ, Pofahl WE, Hickner RC. Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression. Acta Physiol (Oxf) 2007; 191(2): 139-46.

[25] Higashi Y, Kihara Y, Noma K. Endothelial dysfunction and hypertension in aging. Hypertens Res 2012; 35(11): 1039-47.

[26] Jackaman C, Tomay F, Duong L, Abdol Razak NB, Pixley FJ, Metharom P, Nelson DJ. Aging and cancer: The role of macrophages and neutrophils. Ageing Res Rev 2017; 36: 105-16.

[27] Ziyadeh FN. Different roles for TGF-beta and VEGF in the pathogenesis of the cardinal features of diabetic nephropathy. Diabetes Res Clin Pract 2008; 82 Suppl 1: S38-41.

[28] Rodríguez I, González M. Physiological mechanisms of vascular response induced by shear stress and effect of exercise in systemic

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

and placental circulation. Front Pharmacol 2014; 5: 209.

[29] Pearson T, Kabayo T, Ng R, Chamberlain J, McArdle A, Jackson MJ. Skeletal muscle contractions induce acute changes in cytosolic superoxide, but slower responses in mitochondrial superoxide and cellular hydrogen peroxide. PLoS One 2014; 9(5): e96378.

[30] Lieb W, Safa R, Benjamin EJ, Xanthakis V, Yin X, Sullivan LM, Larson MG, Smith HM, Vita JA, Mitchell GF, Sawyer DB, Vasan RS. Vascular endothelial growth factor, its soluble receptor, and hepatocyte growth factor: clinical and genetic correlates and association with vascular function. Eur Heart J 2009; 30(9): 1121-7.

[31] Dulak J, Józkowicz A, Dembinska-Kiec A, Guevara I, Zdzienicka A, Zmudzinska-Grochot D, Florek I, Wójtowicz A, Szuba A, Cooke JP. Nitric oxide induces the synthesis of vascular endothelial growth factor by rat vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20(3): 659-66.

[32] Wood RE, Sanderson BE, Askew CD, Walker PJ, Green S, Stewart IB. Effect of training on the response of plasma vascular endothelial growth factor to exercise in patients with peripheral arterial disease. Clin Sci (Lond) 2006; 111(6): 401-9.

[33] Olfert IM, Howlett RA, Tang K, Dalton ND, Gu Y, Peterson KL, Wagner PD, Breen EC. Muscle-specific VEGF deficiency greatly reduces exercise endurance in mice. J Physiol 2009; 587(Pt 8): 1755-67.

[34] van Weel V, Deckers MM, Grimbergen JM, van Leuven KJ, Lardenoye JH, Schlingemann RO, van Nieuw Amerongen GP, van Bockel JH, van Hinsbergh VW, Quax PH. Vascular endothelial growth factor overexpression in ischemic skeletal muscle enhances myoglobin expression in vivo. Circ Res 2004; 95(1): 58-66.

[35] Farzanegi P, Habibian M, Delavari H. The Effect of Aerobic Exercise on the Levels of Vascular Endothelial Growth Factor and Glucose in Hypertensive Postmenopausal Women: A Randomized Clinical Trial. Qom Univ Med Sci J 2014, 8(4): 6-12.(Persian)

[36] Fernandes T, de Castro Magalhães F, Crivoi do Carmo E, de Oliveira EM. Aerobic exercise training inhibits skeletal muscular apoptotic signaling mediated by VEGF-VEGR2 in spontaneously hypertesive rats. Rev Bras Med Esporte 2012; 18(6): 412-8.

[37] Hara Y, Noda A, Miyata S, Minoshima M, Sugiura M, Kojima J, Otake M, Furukawa M, Cheng XW, Nagata K, Murohara T. Effects of aged garlic extract on left ventricular diastolic function and fibrosis in a rat hypertension model. Exp Anim 2013; 62(4): 305-10.

[38] Saravanan G, Ponmurugan P. Ameliorative potential of S-allyl cysteine on oxidative stress in STZ induced diabetic rats. Chem Biol Interact 2011; 189(1-2): 100-6.

[39] Seo DY, Lee S, Figueroa A, Kwak YS, Kim N, Rhee BD, Ko KS, Bang HS, Baek YH, Han J. Aged garlic extract enhances exercise-mediated improvement of metabolic parameters in high fat diet-induced obese rats. Nutr Res Pract 2012; 6(6): 513-9.

[40] Takashima M, Kanamori Y, Kodera Y, Morihara N, Tamura K. Aged garlic extract exerts endothelium-dependent vasorelaxant effect

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]

on rat aorta by increasing nitric oxide production. Phytomedicine 2017; 24: 56-61.

[41] Dirsch VM, Kiemer AK, Wagner H, Vollmar AM. Effect of allicin and ajoene, two compounds of garlic, on inducible nitric oxide synthase. Atherosclerosis 1998; 139(2): 333-9.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-18]