IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

۱ (۳)، ۱۸۴- ۱۷۶ پاییز ۱۳۹۶

مقاله پژوهشی

تاثیر یک دوره مکمل‌دهی عصاره دارچین بر پاسخ VEGF و اندوستاتین بافت عضلات اندام عقبی بعد از یک جلسه فعالیت وامانده ساز در موش‌های صحرایی مسن

مریم نورشاهی[۱]، فتانه فرهمند[۱*]، محمدرضا بیگدلی[۲]

۱. دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۲. دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

دریافت: ۶ تیر ۹۴ پذیرش: ۳۰ آذر ۹۴

چکیده

مقدمه: هدف از این مطالعه تأثیر یک دوره مکمل‌دهی عصاره دارچین بر میزان VEGF و اندوستاتین پس از یک جلسه فعالیت وامانده‌ساز در موش‌های صحرایی مسن بود.

روش‌ها: ۳۲ سر موش مسن نژاد ویستار به طور تصادفی در ۴ گروه بدون فعالیت ورزشی، دارچین، ورزش وامانده‌ساز، دارچین + ورزش وامانده‌ساز تقسیم شدند. موش‌ها در گروه دارچین و دارچین + ورزش، 200mg/kg/day عصاره دارچین به مدت ۱۴ روز از راه گاواژ دریافت کردند. در گروه ورزش وامانده‌ساز و دارچین + ورزش وامانده‌ساز ابتدا به موشها اجازه داده شد تا با سرعت ۱۰ m/min برای گرم کردن خود روی تردمیل راه بروند. سپس هر ۲ دقیقه، ۲ m/min به سرعت تردمیل اضافه شد تا به سرعت ۲۸ m/min رسید. سپس موشها را بیهوش نموده و عضله SOL و EDL بلافاصله و ۴ ساعت بعد از فعالیت وامانده ساز خارج شد. میزان پروتئین VEGF و اندوستاتین بافت‌ها با روش western blot اندازه گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون تی مستقل و تحلیل واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) در سطح معناداری ($p \leq ۰/۰۵$) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در گروه ورزش وامانده ساز میزان پروتئین VEGF بلافاصله بعد از ورزش کاهش ($p \leq ۰/۰۵$) و ۴ ساعت بعد تنها در تار کند انقباض افزایش یافت ($p \leq ۰/۰۵$). میزان اندوستاتین بلافاصله و ۴ ساعت بعد از فعالیت وامانده ساز در تار کند انقباض افزایش داشت ($p \leq ۰/۰۵$). در گروه دارچین سطح VEGF در تار کند انقباض کاهش و سطح اندوستاتین افزایش یافت ($p \leq ۰/۰۵$). نسبت VEGF به اندوستاتین در همه گروه‌ها در تار تند انقباض کاهش یافت. به‌طورکلی مصرف دارچین آنژیوژنز را در تار کند انقباض مهار کرد درحالی که در گروه دارچین + ورزش این اتفاق رخ نداد یعنی فعالیت ورزشی بر اثرات مهاری دارچین بر آنژیوژنز غلبه کرده است.

واژه‌های کلیدی : آنتی‌اکسیدان، اندواستاتین، رگ‌زایی، سالمندی، فعالیت ورزشی وامانده‌ساز

مقدمه

آنژیوژنز فرآیند ایجاد رگ‌های جدید از رگ‌های پیشین است. رخداد آنژیوژنز به خاطر برهم خوردن تعادل بین فاکتورهای پروآنژیوژنیک و آنتی آنژیوژنیک است [۱]. از مهم‌ترین فاکتورهای پروآنژیوژنیک فاکتور رشد آندوتلیال عروقی (vascular endothelial growth factor [VEGF]) است. VEGF یک میتوژن مخصوص برای سلول‌های آندوتلیال است که بین ۳۵ تا ۴۵ کیلو دالتون وزن دارد و موجب پاسخ رگزایی از طریق گیرنده‌های تیروزین‌کینازی می‌شود [۲]. در مقابل یکی از فاکتورهای آنتی آنژیوژنیک اندوستاتین است. اندواستاتین یک قطعه پروتئولتیک ۲۰ کیلودالتونی از انتهای کربوکسیلیک کلاژن XVIII است که مهارکننده قوی مهاجرت و تکثیر سلول‌های آندوتلیال است. سطوح اندوستاتین و VEGF طی شرایط خاص مانند فعالیت ورزشی، تغییرات سن،

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: fataneh.farahmand69@gmail.com
وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir
پست الکترونیکی: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-15]

بیماری و مصرف مواد حاوی آنتی‌اکسیدان تحت تاثیر قرار می‌گیرد. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که محرک‌های مختلفی مانند کم خونی موضعی، گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species [ROS])، شدت و مدت فعالیت بدنی موجب افزایش مویرگ‌زایی می‌شوند [۳، ۴].

تغییرات سن به عنوان یک فرآیند بیولوژیکی شناخته شده است که اثرات مختلفی بر عملکرد سلول، حافظه و یادگیری چه در انسان و چه در حیوانات دارد. همه این تغییرات به دلیل مصرف ناکافی مواد مغذی، کاهش ذخیره اکسیژن به اندام‌های مختلف به دلیل کاهش جریان خون در سراسر مویرگ‌ها رخ می‌دهد. مطالعات بسیاری این نکته را تاکید کرده‌اند که تاخیر در فرآیند آنژیوژنز ناشی از سن، منجر به کاهش در عملکرد سلول می‌شود. همچنین کاهش در ظرفیت بافت‌ها در حمایت از فرآیند آنژیوژنز نقش مخربی در حفظ سلامت افراد سالمند دارد. از طرفی مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که سالمندی تاثیر منفی بر فرآیند آنژیوژنز دارد و تاخیر در فرآیند آنژیوژنز ناشی از سن، منجر به نقص در عملکرد سلول و اثرات مضری بر سلامتی می‌شود که این تاخیر در فرآیند آنژیوژنز به عوامل متعددی از جمله نقص در عملکرد سلول‌های آندوتلیال، کاهش بیان VEGF وFGF (fibriblast growth factor) و افزایش در بیان مهار کننده‌های آنژیوژنز بستگی دارد. نقش فعالیت ورزشی در این زمینه بسیار حائز اهمیت می‌باشد. فعالیت ورزشی منظم و طولانی مدت به عنوان یک مداخله درمانی برای درمان بسیاری از بیماری‌های مزمن ازجمله بیماری‌های قلبی–عروقی، دیابت و چاقی است. کم تحریکی و عدم فعالیت بدنی به عنوان یک عامل خطر این شرایط پاتولوژیکی را در سالمندان افزایش می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی می‌تواند به عنوان یک عامل مثبت در تحریک فرآیند آنژیوژنز در شرایط فیزیولوژیکی و حتی در شرایط پاتولوژیکی در سالمندان باشد. افزایش در میزان فرآیند آنژیوژنز ناشی از فعالیت ورزشی می‌تواند ناشی از عوامل مکانیکی و فاکتورهای متابولیکی باشد که ممکن است منجر به افزایش در میزان فاکتورهای موثر و شناخته شده در فرآیند آنژیوژنز شود [۵].

همچنین مطالعات مختلف نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی شدید و فرآیند سالمندی باعث افزایش تولید ROS می‌شوند [۶]. اگرچه ROS در مقادیر بالا سبب آسیب‌های ساختاری و مرگ سلولی می‌شود، ولی نشان داده شده است که در مقادیر کم تا متوسط برای تندرستی و داشتن نقش‌های مختلف نظارتی در سلول ضروری هستند که به عنوان عامل مهم در بهبود فرآیند آنژیوژنز شناخته شده‌اند. مطالعات زیادی در تایید این فرضیه که ROS مشتق از NADPH اکسیداز نقش مهمی در بیان VEGF و آنژیوزنز در داخل بدن و شرایط آزمایشگاهی دارد، انجام شده است. نشان داده شده است که VEGF موجب تحریک و تولید O_{2}^{-} در gp91phox و Rac1 که در فسفوریلاسیون گیرنده تیروزین کینازی VEGF یعنی KDR ضروری است، می‌شود. همچنین منجر به تکثیر و مهاجرت سلول‌های آندوتلیال می‌شود [۷]. از طرفی در دوران سالمندی بر طبق تئوری رادیکال های آزاد و سالمندی، انتظار می‌رود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در افراد سالمند کاهش یابد [۳]. همچنین نامطلوب بودن وضعیت تغذیه‌ای آن‌ها به دلیل کاهش کیفیت زندگی زمینه بروز بسیاری از بیماری‌ها را فراهم می‌کند. با این وجود عدم تعادل بین این مولکول‌های اکسیدان و آنتی‌اکسیدان بدن و وجود استرس‌های اکسیداتیو، می‌تواند منجر به اثرات مضر در ارگانیسم، بروز بیماری‌هایی مانند قلبی–عروقی، چاقی، سرطان و آسیب‌های حاد ریه شود. بنابراین مصرف مواد حاوی آنتی اکسیدان‌ها امری ضروری است زیرا اثرات ROS توسط مجموعه‌ای از مولکول‌های آنتی‌اکسیدان خنثی می‌شود [۸]. از آنجا که مصرف مواد غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان از بروز این بیماری‌ها جلوگیری می‌کند، توجه به مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در سالمندان در حال رشد است [۷]. ورزشکاران نیز برای کاهش سطوح و حذف اثرات مضر ROS مکمل‌های ویتامینی و آنتی‌اکسیدانی را مصرف می‌کنند [۹].

از جمله مواد طبیعی و در دسترس که حاوی درصد بالایی از مواد آنتی‌اکسیدان است دارچین می‌باشد. دارچین از خانواده لورسیا و حاوی مولکول‌های زیستی کربوهیدرات و تانن است. برگ و پوست دارچین به طور گسترده به عنوان ادویه در غذا استفاده می‌شود. دارچین دارای طعم گرم است و بوی تندی در هنگام خرد کردن ساطع می‌کند. این گیاه باعث تحریک گردش خون، به خصوص در انگشتان دست و پا می‌شود. علاوه بر این، عصاره دارچین نقش تعدیل کننده در سطح قند خون، چربی خون و شاخص‌های عملکرد اندوتلیالی نیتریک اکساید سرم دارد. دارچین دارای خواص ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضددیابتی است. همچنین اثرات عصاره دارچین بر آنژیوژنزیز، متاستاز و بقاء سلولی شناخته شده است [۱۰]. از طرفی

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-15]

پژوهش‌های انجام شده مشخص کردند که پلی فنل‌های موجود در عصاره دارچین به طور قوی مهارکننده آنژیوژنز هستند [۱۱]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که عصاره دارچین دارای اجزای فعالی به نام سیناآلدئید و Polyvinyl pyrrolidon است که نقش مهمی در مهار VEGF و گیرنده‌های آن دارد و دارچین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان فرایند آنژیوژنز را مهار می‌کند. برای مثال در پژوهشی که توسط ریشیپال و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد، نشان دادند که عصاره دارچین با غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر برای مدت ۱، ۳ و ۶ ساعت در سلول‌های آندوتلیال کشت شده باعث مهار آنژیوژنز در مسیرهای مربوط به پروتئین کیناز C، MAPK و گیرنده‌های VEGF می‌شود. بنابراین تعادل در مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی بسیار ضروری است. پس می‌توان عنوان کرد که در دوران سالمندی فرآیند آنژیوزنز کاهش می‌یابد که با انجام فعالیت ورزشی به دلیل تولید ROS و سایر مکانیسم‌های ذکر شده می‌توان از کاهش آن جلوگیری کرد و همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در این افراد کاهش می‌یابد که به منظور جبران آن، میزان مصرف مواد آنتی‌اکسیدان در آنها افزایش می‌یابد. اما از طرفی مصرف این مواد فرآیند آنژیوژنز را مهار می‌کند. پژوهش حاضر به دنبال پاسخگویی به این سوالات است که آیا مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها به تنهایی چنین نقش مخربی را دارد؟ و درصورتی که همراه با فعالیت ورزشی باشد آیا باز هم فرآیند آنژیوژنز را مهار می‌کند؟

مواد و روش‌ها

عصاره متانلی پوست دارچین در آزمایشگاه پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهیه شد. دارچین گیاه بومی هند و سریلانکا است. پوسته خشک درخت دارچین از عطاری تهیه و به صورت پودر درآورده شد. ۳۵۰ گرم از پودر تهیه شده را درون یک بشر ۱۰۰۰ میلی لیتری ریخته و روی آن ۶۰۰ میلی لیتر متانل خالص (به طوریکه تمامی پودر را بپوشاند) اضافه شد. نمونه تهیه شده چندین بار به هم زده شد و به مدت ۲۴ ساعت به همین صورت باقی می‌ماند. بعد از ۲۴ ساعت فاز بالایی را برداشته و روی باقی مانده ماده، دوباره متانل ریخته و بهم زده شد. این کار به مدت ۵ روز انجام شد تا عصاره گیاه به طور کامل استخراج شود. سپس کل فازهای بالایی صاف شده و با استفاده از دستگاه روتاری حلال آن جدا شده و ۳۰ گرم عصاره غلیظ و خشک حاصل شد [۱۵]. عصاره تهیه شده در محلول دی متیل سولفوکسید ۰/۱٪ حل شد.

۳۲ سر موش ویستار ۲۰ ماهه با میانگین وزنی ۲۵ ± ۳۵۷ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند. موش‌ها در محیطی با میانگین دمای ۱/۴ ± ۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴ ± ۵۵٪ و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند. در تمام مراحل پژوهش به غذای مخصوص و آب آشامیدنی که در ظرف‌های مخصوص آب حیوانات وجود داشت، به اندازه کافی و آزادانه دسترسی داشتند. ملاحظات اخلاقی مطابق اصول کار با حیوانات ازمایشگاهی مصوب دانشگاه شهید بهشتی رعایت شد. موش‌ها در هفته اول با شرایط زندگی در آزمایشگاه آشنا و سپس به چهارگروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه‌های پژوهش به شرح زیر بودند:

گروه اول (EX) تحت ورزش وا مانده ساز قرار داده شدند. گروه دوم (CE) به مدت ۱۴ روز عصاره دارچین با دوز ۲۰۰ mg/kg/day دریافت کردند. گروه سوم (EX + CE) مدت ۱۴ روز عصاره دارچین با دوز ۲۰۰ mg/kg/day دریافت کرده و یک جلسه فعالیت استقامتی واماندەساز انجام دادند. گروه چهارم گروه کنترل بودند و ورزش وا مانده ساز انجام ندادند. عصاره دارچین به صورت گاواژ تجویز می شد [۱۲]. موش‌های گروه‌های EX + CE و EX به منظور آشنایی با تردمیل ابتدا ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲-۸ متر بر دقیقه به مدت سه روز دویدند و بعد از پایان دوره تجویز عصاره، فعالیت واماندەساز روی تردمیل انجام دادند. در روز فعالیت ورزشی، موش‌ها ابتدا ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای گرم کردن خود روی تردمیل راه رفتند. سپس به تدریج هر ۲ دقیقه، ۲ متر بر دقیقه به سرعت تردمیل اضافه شد تا به سرعت ثابت ۲۸ متر بر دقیقه برسد. در این سرعت که معادل۸۰-۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی است، تا حد واماندگی دویدند. هم چنین در تمام مراحل فوق شیب نوارگردان صفر درجه بود [۱۳]. واماندگی زمانی مشخص شد که اگر موش‌ها به پشت خوابانده شوند قادر به برگرداندن خود به وضعیت اولیه نباشند [۱۴].

نمونه‌گیری بلافاصله و ۴ ساعت پس از واماندگی انجام شد. برای این منظور موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلازین (۵/۳ mg/kg) بیهوش و

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-15]

سپس عضله باز کننده دراز انگشتان پا (EDL) و عضله نعلی (SOL) برای اندازگیری میزان پروتئین اندوستاتین و VEGF شد. جهت تعیین میزان بیان پروتئین‌های مورد نظر از روش Western blot استفاده شد. برای هموژن کردن نمونه‌ها، ابتدا نمونه‌ها به وسیله نیتروژن مایع پودر شدند. سپس نمونه‌های پودر شده عضله توسط بافر هموژن (Tris-HCL=500 µL, pH 8, EDTA=0.003 g, NACL=0.08 g Sodium Deoxycholate=0.025 g, SDS=0.01 g, Protease inhibitor cocktail=1 tablet, NP 40(0.1%)=10 µl), برای بدست آوردن عصاره سلولی لیز شدند. برای هموژن کردن بافت چهار الی ۵ برابر وزن نمونه‌ها بافر لیز کننده ریخته و با دور 4000 rpm به مدت سه زمان دو دقیقه‌ای با فاصله زمانی ۵ دقیقه‌ای بین دفعات برای جلوگیری از گرم شدن و دناتوره شدن پروتئین هموژن شدند. سپس بافت هموژن شده به مدت ۷ تا ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد و در دور 12000 rpm سانترفیوژ شد. مایع رویی نمونه‌ها جدا و در فریزر ۲۰- درجه تا زمان مورد نظر نگهداری شدند. جهت انجام وسترن بلات به طور خلاصه نمونه‌های پروتئینی تهیه شده قبل از ریخته شدن در چاهک باید هم غلظت شده و با بافر نمونه Tris (pH 6.8)=0.6 mg, Glycerol=2.5 mg, mercapto ethanol=0.5 mg, Bromophenol bule=0.01 g, SDS=0.2 g) مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شدند. در ادامه لایزت پروتئین در معرض SDS-PAGE ۵-۱۲/۵ درصد قرار داده شد. پروتئین‌های انتقال یافته به غشای نیتروسلولزی به وسیله آنتی‌بادی اختصاصی (VEGF abcam VEGF ab, 3109) و اندوستاتین (Endostatin abcam , ab 64569) ساخت کشور دانمارک پروتئین‌های آن شناسایی شد. مقادیر این پروتئین‌ها با تهیه فیلم عکاسی از باندهای پروتئینی شناسایی شده و با استفاده از نرم افزارimage-j چگالی باندها اندازگیری شد. از آنجا که β-actin جز پروتئین‌هایی است که میزان بیان آن در سلول ثابت است از آنتی‌بادی این پروتئین برای حذف خطای لود کردن مقادیر مساوی پروتئین در چاهک‌ها استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ورژن ۱۶ انجام شد. طبیعی بودن داده‌ها به وسیله آزمون شاپیروویلک مشخص شد. برای بررسی اختلاف معنادار سطوح اندواستاتین و VEGF در بازه های زمانی بلافاصله و چهار ساعت بعد از فعالیت وامانده‌ساز در چهار گروه از آزمون One-Way ANOVA مستقل و همچنین برای تعیین سطح پایه مکمل از آزمون t مستقل استفاده شد. برای تفاوت معنادار بین گروه‌ها از آزمون‌های تعقیبی بانفرونی و گیمزهاول استفاده شد. سطوح معنی‌داری نیز ($p \leq ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

VEGF بافت عضله نعلی

میزان تغییرات VEGF درعضله نعلی بلافاصله ($p = ۰/۰۰۱$، $F_{۳،۱۹} = ۹/۶۲$) و ۴ ساعت بعد ($p = ۰/۰۰۱$، $F_{۳،۱۹} = ۳۲/۵۶$) در گروه‌ها معنادار بود (نمودار ۱).

VEGF بافت عضله EDL

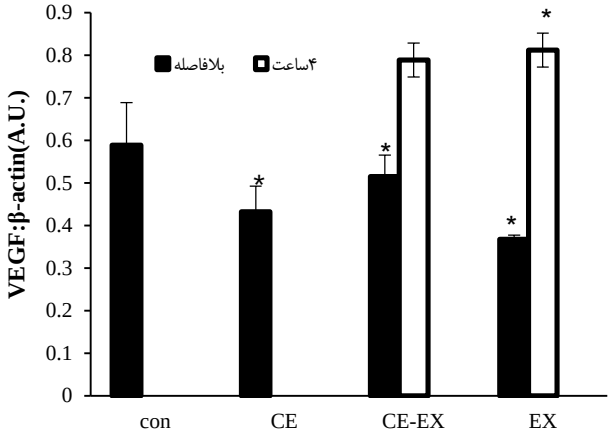
میزان تغییرات VEGF درعضله EDL بلافاصله ($p = ۰/۰۰۱$، $F_{۳،۱۸} = ۱۹/۴۹$) و ۴ ساعت بعد ($p = ۰/۰۰۱$، $F_{۳،۱۸} = ۴۱/۲$) در گروه‌ها معنادار بود (نمودار ۲).

اندوستاتین بافت عضله نعلی

تغییرات اندوستاتین درعضله نعلی بلافاصله ($p = ۰/۰۰۱$، $F_{۳،۱۹} = ۳۵/۶۸$) و ۴ ساعت بعد ($p = ۰/۰۰۱$، $F_{۳،۱۹} = ۱۲/۵۱$) در گروه‌ها معنادار بود (نمودار ۳).

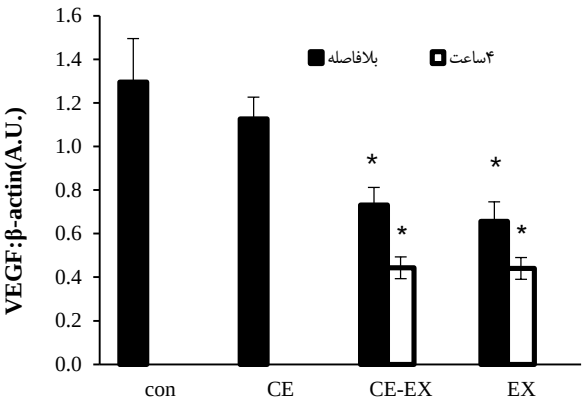
اندوستاتین بافت عضله EDL

میزان تغییرات اندوستاتین درعضله EDL بلافاصله ($p = ۰/۰۰۱$، $F_{۳،۱۹} = ۳۶/۸۹$) و ۴ ساعت بعد ($p = ۰/۰۰۱$، $F_{۳،۱۹} = ۸۳/۷۹$) در گروه‌ها معنادار بود (نمودار ۴).



نمودار ۱- مقادیر VEGF در عضله نعلی بلافاصله و ۴ ساعت پس از ورزش وامانده‌ساز در موش های مسن ۲۰ ماهه ($n = 3$).*: اختلاف معنادار با گروه کنترل با $p \leq ۰/۰۵$ با تست One-Way ANOVA. کنترل (Con)، عصاره دارچین (CE)، عصاره دارچین به همراه ورزش وامانده ساز (CE-EX) ، ورزش وامانده ساز (EX).

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-15]



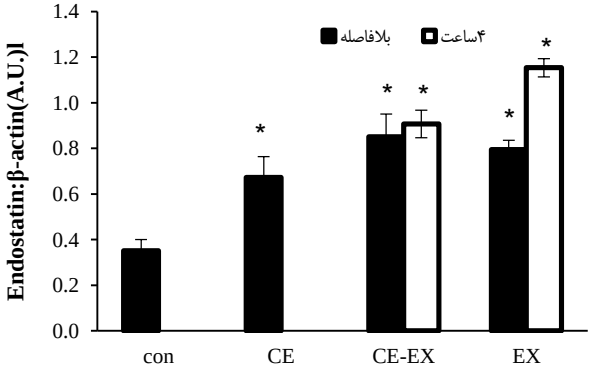
نمودار ۲- مقادیر VEGF در عضله بازکننده دراز انگشتان پا بلافاصله و ۴ ساعت پس از ورزش وامانده ساز در موش های مسن ۲۰ ماهه (n = 3).*: اختلاف معنادار با گروه کنترل با $p \leq ۰/۰۵$ با تست One-Way ANOVA. کنترل (Con)، عصاره دارچین (CE)، عصاره دارچین به همراه ورزش وامانده ساز (CE-EX)، ورزش وامانده ساز (EX).

بحث

نتایج پژوهش ما نشان داد که تغییرات VEGF در بافت کند انقباض در همه گروه‌ها در بلافاصله بعد از فعالیت وامانده‌ساز کاهش یافت که این کاهش در گروه دارچین و گروه ورزش بلافاصله معنادار بود (دارچین ۲۶٪، و ورزش ۳۷٪). نتایج بدست آمده از این پژوهش با نتایج پژوهش جیان ویگو و همکاران (۲۰۰۴) و گاوین و همکاران (۲۰۰۳) موافق بوده است که کاهش پروتئین VEGFرا بلافاصله در پاسخ به یک جلسه فعالیت حاد گزارش کرده‌اند که دلیل اصلی کاهشVEGF در پاسخ به تمرین حاد در پژوهش حاضرمی‌تواند ناشی از افزایش اتصال VEGF به گیرنده اندوتلیومی خود در عضله اسکلتی و قلبی باشد و همچنین افزایش قابل توجه پروتئین‌های متصل شونده بهVEGFدرگردش خون که مسئول محافظت از سیستم قلبی-عروقی می‌باشند. همچنین این کاهش در میزان VEGF، ترشح VEGF از عضله اسکلتی به گردش خون در طی و بعد ورزش را منعکس می‌کند. همچنین مطالعات بیان کردند میزان پروتئین VEGF در فضای میان بافتی عضله اسکلتی در ۳۰ دقیقه بعد از ورزش افزایش می‌یابد که این افزایش در فضای میان بافتی می‌تواند وارد فضای عروقی شود که این افزایش در فضای میان‌بافتی در طی ورزش و کاهش آن در عضله اسکلتی بلافاصله بعد از فعالیت، نتیجه تقسیم و تجزیه پروتئولیتیک VEGF از جایگاه اتصال خارج سلولی آن است. تجزیه پروتئولیتیک VEGF ممکن است ناشی از تولیدMMP (Matrix metalloproteinase) در سلول‌های اندوتلیال باشد که این افزایش در میزان تولید MMP منجر به تجزیه و تقسیم VEGF می‌شود.

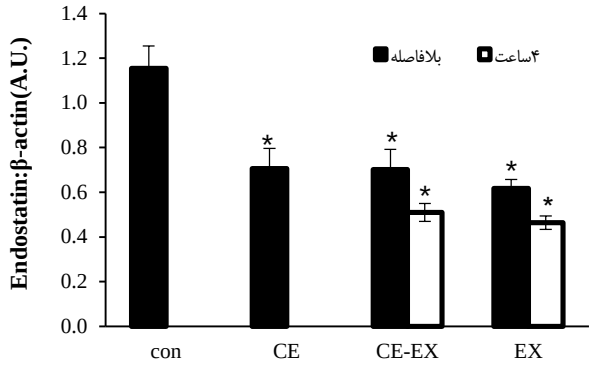
نتایج پژوهش در ارتباط مصرف مکمل آنتی‌اکسیدانی دارچین و فعالیت ورزشی نشان داد تفاوت معناداری بین گروه کنترل و دارچین در بافت کند انقباض وجود دارد یعنی دو هفته مکمل دهی دارچین سطوح VEGF استراحتی را در عضله نعلی ۲۶٪ کاهش داده است. تنها پژوهش‌های انجام شده در این زمینه می‌توان به پژوهش جیان مینگ و همکاران (۲۰۰۹) و ریشیپال و همکاران (۲۰۱۲) اشاره کرد که کاهش ۵۰ درصدی فعالیت VEGFR2را در سلول‌های HUVEC و FCS که در مجاورت عصاره دارچین قرار داشتند، گزارش کردند و نشان دادند که مجاورت عصاره دارچین در سلول‌های آندوتلیال‌کشت شده باعث مهار VEGF و گیرنده‌های آن می‌شود.

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که عصاره دارچین دارای اجزای فعالی به نام سیناآلدئید و polyvinylpyrrolidon است که نقش بسیار مهمی در مهارVEGF و گیرنده‌های آن دارد [۱۰]. دلیل احتمالی مهار VEGF توسط آنتی‌اکسیدان‌ها در این پژوهش شامل: ۱- آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق مهار مسیر PKC (Protein kinase c) و MAPK (Mitogen activated protein kinase) منجر به تغییر در تنظیم و بیان VEGF و VEGFR-2 می‌شوند زیرا بیان و فسفوریلاسیون MAPK به عنوان یک عامل کلیدی بسیار مهم در مهاجرت و تکثیر سلول‌های آندوتلیال است. درحالی که



نمودار ۳- مقادیر اندوستاتین درعضله نعلی بلافاصله و ۴ ساعت پس از ورزش وامانده ساز در موش های مسن ۲۰ ماهه (n = 3).*: اختلاف معنادار با گروه کنترل با $p \leq ۰/۰۵$ با تست One-Way ANOVA. کنترل(Con)، عصاره دارچین (CE)، عصاره دارچین به همراه ورزش وامانده ساز (CE-EX)، ورزش وامانده ساز (EX).

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-15]



نمودار ٤- مقادیر اندوستاتین درعضله باز کننده دراز انگشتان پا بلافاصله و ۴ ساعت پس از ورزش وامانده ساز در موش های مسن ۲۰ ماهه ($n = 3$).*: اختلاف معنادار با گروه کنترل با $p \leq ۰/۰۵$ با تست One-Way ANOVA. کنترل (Con)، عصاره دارچین (CE)، عصاره دارچین به همراه ورزش وامانده ساز (CE-EX)، ورزش وامانده‌ساز (EX).

مجاورت سلول‌های آندوتلیال با عصاره دارچین منجر به مهار VEGF وابسته به فسفوریلاسیون MAPK می‌شود. ۲- فسفوریلاسیون Stat3 همانند Jak2 و Src کیناز (دو کیناز مهمی که منجر به فسفوریلاسیون Stat3 می‌شوند) به طور معناداری در اثر مجاورت با عصاره دارچین کاهش می‌یابد که کاهش بیان Stat3 منجر به مهار بیانVEGFمی‌شود. در نهایت اینکه آنتی‌اکسیدان‌ها نقش بسیار مهمی در مهارفرآیند آنژیوژنز و مسیرهای مربوط به VEGFR2 و VEGF ایفا می‌کنند [۱۱، ۱۶].

مکانیزم‌های مختلفی برای مهار فرآیند آنژیوژنز توسط آنتی‌اکسیدان‌ها پیشنهاد شده است از جمله این که آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به مهار بیان و فسفوریلاسیون، ERK ,MAPK ،AKT ,P_{38} ,JNk (jun n terminal kinase) و FAK (focal adhesion kinase) می‌شوند. با مهار eNOS تولید NO به عنوان یک فاکتور مهم در افزایش و بیان VEGF در سلول‌های آندوتلیال را کاهش داده و منجر به مهار فرآیند آنژیوژنز می‌شوند. همچنین فعالیتMMP-2MMP-9 توسط آنتی‌اکسیدان‌ها مهار می‌شود. این‌آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق فسفوریلاسیون MAPKP44 و MAPKP42 موجب مهار کیناز گیرنده سلولی (که به عنوان یک فاکتور مهم در مهاجرت و تکثیر سلول‌های آندوتلیال است) می‌شوند [۱۷].

از دیگر نتایج پژوهش حاضر افزایش VEGFدر بازه زمانی ۴ ساعت بعد از فعالیت ورزشی در گروه ورزش و دارچین- ورزش در بافت کند انقباض به میزان به ترتیب ۳۷٪ و ۳۳٪ بود. نتایج پژوهش حاضر با نتایج گاوین و همکاران (۲۰۰۳ و ۲۰۰۷) موافق است که افزایش در میزان پروتئین VEGF، ۴ ساعت بعد از فعالیت ورزشی را مشاهده کردند. مکانیزم احتمالی ذکر شده در افزایشVEGFدر پژوهش حاضر را می‌توان ناشی از افزایش در سطوح تنظیم کننده گیرنده پروتئین VEGF یعنی KDR و flt-1 mRNA در سلول‌های آندوتلیال دانست که افزایش در بیان ژنی KDR وfLt-1، مسئول افزایش VEGF ناشی از تمرین ورزشی است. همچنین افزایش در میزان ماتریکس متالوپروتئازها منجر به تخریب غشای پایه و افزایش فاکتورهای منجر به رگزایی از جمله VEGFمی‌شود و اینکه هیچ‌گونه جذب محیطی VEGF از گردش خون توسط عضلات صورت نگرفته و افزایش VEGF در عضله ناشی از افزایش فرایند نسخه برداری در خود عضله است.

نتایج پژوهش حاضر افزایش ۳۳٪ و ۶۲٪ VEGFدرگروه دارچین-ورزش ۴ ساعت را نسبت به گروه کنترل و دارچین نشان داد. پژوهش‌های مختلفی نشان داده‌اند به دنبال یک جلسه فعالیت ورزشی شدید در سالمندان نیز میزان تولید ROS افزایش می‌یابد [۱۸]. همچنین گزارش شده است که ROS یک عامل مهم در فعال‌سازی VEGFR2می‌باشد که از طریق اتصال به NADH اکسیداز باعث بیان مهم‌ترین فاکتور آنژیوژنز یعنی VEGF و اتصال آن به گیرنده‌ی خود یعنی VEGFR2 می‌شود. همچنین تولید VEGF ناشی از ROS از طریق مسیر PI3K/AKT صورت می‌گیرد. از طرفی اختلال در اتصالVEGFبه گیرنده خود به دلیل تولید بیش از حد ROS رخ می‌دهد درنتیجه افزایش بیش از حد سطوح ROS و مکمل آنتی‌اکسیدان عروقی شدن بافت را کاهش می‌دهد [۷، ۱۹]. بنابراین احتمالا افزایش VEGF در ۴ ساعت بعد از فعالیت در گروه دارچین-ورزش را اینگونه می توان توجیه کرد که مکانیزم‌های افزایش VEGF ناشی از فعالیت ورزشی توانسته بر پاسخ مهاری آنتی‌اکسیدانی دارچین غلبه کند. نتایج پژوهش در ارتباط با اندوستاتین نشان داد که اندوستاتین در بافت کند انقباض بلافاصله و ۴ ساعت بعد در گروه‌های دارچین، دارچین-ورزش و ورزش (۶۰٪، ۶۷٪-۶۹٪ و ۶۴٪-۸۵٪) افزایش یافت. نتایج پژوهش حاضر با نتایج جیان ویگو و همکاران (۲۰۰۴) موافق است. مکانیزم رهایش اندوستاتین هنوز به طور کامل مشخص نشده است، ولی مکانیزم احتمالی آن شامل: ۱- رهایش اندوستاتین از کلاژن XVIII به واسطه پروتئازهایی مانند سیستئین پروتئاز، ماتریکس متالوپروتئاز و

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-15]

آسپارتیک پروتئاز می‌باشد که تعداد بسیاری از این پروتئازها به واسطه تغییرات فیزیولوژیکی کلاژن‌ها به دنبال فعالیت ورزشی افزایش می‌یابند. پس می‌توان بیان کرد که افزایش اندوستاتین ناشی از فعالیت ورزشی به دلیل افزایش رهایی و تغییرات کلاژن‌ها است. ۲- انتشار و رهایی پروتئازهای ماتریکس خارج سلولی است. همچنین ممکن است فعالیت ورزشی منجر به تغییر ویژگی‌های اندوستاتین در بافت‌هایی متابولیکی فعال و افزایش جریان خون به این بافت‌ها شود و این شرایط منجر به افزایش میزان اندوستاتین در گردش خون شود. این افزایش میزان اندوستاتین به عنوان یک عامل مفید در شیوع بیماری‌های قلبی مانند آترواسکلروزیس مطرح است. همچنین عنوان شده که بعد از فعالیت ورزشی میزان فاکتورهای آنتی‌آنژیوژنیک افزایش می‌یابد که نقش بیش جبرانی در کنترل فرآیند آنژیوژنز دارد [۲۰].

از آنجا که نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند آنتی‌اکسیدان‌ها مهارکننده قوی آنژیوژنز هستند پس انتظار می‌رود میزان اندوستاتین به عنوان یک مهارکننده آنژیوژنز افزایش یابد که چنین اتفاقی در عضله نعلی صورت گرفته است. پژوهش‌های مختلف عنوان کرده اند که رابطه قوی بین میزان تغییرات اندوستاتین به منظور حفظ تعادل فاکتورهای آنژیوژنیکی و پروآنژیوژنیک وجود دارد [۲۰] و به علت تعادل بین فاکتورهای آنژیوزیکی میزان اندوستاتین افزایش یافته است. با قاطعیت نمی‌توان گفت که فعالیت ورزشی منجر به افزایش اندوستاتین شده بلکه می‌توان به نقش بیش جبرانی اندوستاتین اشاره کرد که افزایش اندوستاتین یک نقش بیش جبرانی برای کاهش VEGF می‌باشد.

از دیگر نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر کاهش در میزان پروتئینVEGFدر بلافاصله و ۴ ساعت بعداز فعالیت وامانده‌ساز در گروه ورزش ۴۹٪-۶۶ ٪ و دارچین-ورزش ۴۳٪-۶۵٪ و همچنین کاهش اندوستاتین در بلافاصله و ۴ ساعت در گروه دارچین ۳۸٪ در گروه ورزش ۴۶٪ و ۵۹٪ و دارچین-ورزش ۳۹٪ و ۳۴٪ در عضله EDL است به طور کلی در عضله EDL نسبت VEGFبه اندوستاتین در همه گروه‌ها در بلافاصله و ۴ ساعت بعداز فعالیت کاهش یافت که می‌تواند ناشی از کاهش درگیری تارهای تندانقباض در فعالیت باشد که شاید شدت، مدت و یا حتی شیب تردمیل به حدی نبوده است که منجر به درگیری تارهای نوع دوم شود. بنابراین درگیری تارهای نوع اول بیشتر بوده و تغییرات گزارش شده ار VEGF و اندوستاتین و نسبت آن‌ها در تارهای نوع دوم کاهش یافته است.

به طور کلی نتایج پژوهش ما نشان داد میزان VEGF در بافت کند و تند انقباض بلافاصله بعد از فعالیت وامانده‌ساز کاهش و در ۴ ساعت بعد فقط در بافت کند انقباض افزایش یافت. میزان تغییرات اندوستاتین در بلافاصله و ۴ ساعت بعد از فعالیت در بافت کند انقباض افزایش داشت. در پژوهش حاضر به دلیل درگیری بیشتر تارهای نوع اول، نسبت VEGF به اندوستاتین در ۴ ساعت بعد از فعالیت در عضله EDL کاهش یافت. همچنین با مصرف آنتی‌اکسیدان دارچین مهار آنژیوژنز در بافت کند انقباض در گروه دارچین صورت گرفت در حالی که در گروه دارچین-ورزش ۴ ساعت این اتفاق رخ نداد وحتی میزان VEGF افزایش یافت که می‌توان عنوان کرد فعالیت ورزشی با غلبه فاکتورهای آنژیوژنیکی بر آنتی آنژیوژنیک بر اثرات مهاری کوتاه مدت آنتی‌اکسیدانی دارچین غلبه کرده است و منجر به افزایش فرآیند آنژیوژنز شده است. همچنین افزایش میزان پروتئین اندوستاتین در عضله نعلی در گروه ورزش و دارچین و ورزش احتمالابه عنوان یک نقش بیش جبرانی در جلوگیری از کاهشVEGF در بلافاصله بعد از فعالیت می‌باشد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر در مورد عدم مهار فرآیند آنژیوژنز با یک دوره مکمل دهی عصاره دارچین و فعالیت ورزشی، می‌توان گفت مصرف کوتاه مدت مواد حاوی آنتی‌اکسیدان به همراه فعالیت ورزشی ممانعتی برای سالمندان ندارد ولی بدون دخالت فعالیت ورزشی مصرف آنتی اکسیدان‌ها منجر به مهار فرآیند آنژیوژنز می‌شود پس فعالیت ورزشی به عنوان یک مداخله مفید باید در سالمندان مورد توجه قرار گیرد.

پیشنهاد می‌شود چون VEGFR1 و VEGFR2 نقش مهمی در بیان VEGF دارند اندازه گیری این دو فاکتور بسیار مهم انجام شود. اندازه گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند GPX و SOD و کاتالاز صورت گیرد تا بارگیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشخص شود. دوره طولانی مدت مکمل‌دهی آنتی‌اکسیدانی به همراه تمرین ورزشی انجام گیرد و میزان تغییراتVEGF و اندوستاتین تعیین شود.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی مصرف دارچین آنژیوژنز را در تار کند انقباض

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-15]

مهار کرد درحالی که در گروه دارچین + ورزش این اثر مشاهده نمی شود یعنی فعالیت ورزشی بر اثرات مهاری دارچین بر آنژیوژنز غلبه کرده است.

سپاسگزاری

از سرکار خانم‌ها دکتر فریبا خداقلی و دکتر رعنا فیاض میلانی، و جناب آقای دکتر صالحی رئیس پژوهشکده گیاهان دارویی و دکتر سنبلی به دلیل یاری‌ها و راهنمایی‌هایشان و نیز از کلیه کارکنان مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی جهت همکاری بی‌دریغشان تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهم نویسندگان

م.ن: انجام مطالعه و نگارش مقاله; ف.ف: ایده، طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله; م.ب: مشاوره و اجرای بخشی از مطالعه.

فهرست منابع

[1] Folkman J, Angiogenesis. ***Annu Rev Med*** 57 (2006) 1–18.

[2] Roskoski R, VEGF receptor protein–tyrosine kinases: Structure and regulation. ***Biochem Biophys Res Commun*** 3 (2008) 287–291.

[3] Paczek B, Bartlomiejczyk I, Przybylski J, The serum levels of growth factors: PDGF, TGF-BET and VEGF are induced after strenuous physical exercise. ***J Physiol Pharmacol*** 57 (2006) 19-197.

[4] Tang K, Xia FC, WagneSr PD, Breen EC, Exercise – induced VEGF transcriptional activitation in brain, lung and skeletal muscle. ***Respir Physiol Neurobiol*** 170 (2010) 16-22.

[5] Korivi M, Hou C, Chen CY, Lee JP, Kesireddy SR, Kuo CH, Angiogenesis: role of exercise training and aging. ***Adapt Med*** 2 (2010) 29-41.

[6] Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M, Graf C, Latsch J, Montie G, Prede G, Bloch W, Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50–60 years. ***Br J Sports Med*** 42 (2008) 126-129.

[7] Ushio-Fukai M, Yoshimasa N, Reactive oxygen species and angiogenesis: NADPH oxidase as target for cancer therapy. Cancer Lett 266 (2008) 37–52.

[8] Couto Gomes E, Nunes Silva A, Rubino M, Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. ***Oxid Med Cell Longev*** 2012 (2012) 756132.

[9] Dabidi Roshan V, Moslehi Najafabadi E, The effect of short-term vitamin E supplementation on some indexes of sport performances and lipid peroxidation healthy Men. ***World J Sport Sci*** 2 (2009) 75-81.

[10] Amin KA, Abd El-Twab TM, Oxidative markers, nitric oxide and homocysteine alteration in hypercholesterolimic rats: role of atorvastatine and cinnamon. ***Int J Clin Exp Med*** 2 (2009) 254-265.

[11] Lu J, Zhang K, Nam S, Anderson R, Jove R, Wen W, Novel angiogenesis inhibitory activity in cinnamon extract blocks VEGFR2 kinase and downstream signaling. ***Carcinogenesis*** 31 (2010) 481–488.

[12] Dehghan G, Ebrahimi S, Shaghaghi M, Jafari A, Mohammadi M, Badalzadeh R, Fallah S, Antioxidant effect of cinnamon bark extract following an exhaustive exercise in male Rats. ***J Babol University Med Sci*** 13 (2011) 21-28.

[13] Huang C, Lin TJ, Lu YF, Chen CC, Huang CY, Lin WT, Protective effects of L-Arginine supplementation against exhaustive exercise-induced oxidative stress in young rat tissues. ***Chinese J Physiol*** 52 (2009) 306-315.

[14] Lin W, Yang S, Tesia S, Huang Cand Lee N, L-Arginine attenuates xanthine oxidase and myelopin hearts of rats during exhaustive exercise. ***Br J Nutr*** 95 (2006) 67–75.

[15] Dehghan G, Shafiee A, Ghahremani S, Abdollahi M, Antioxidan potential of various ferul Szovitsiana in relation to their phenolic content. ***Pharm Biol*** 9 (2007) 691-699.

[16] Bansode RR, Leung T, Randolph P, Williams LL, Ahmedna M, Cinnamon extract inhibits angiogenesis in zebrafish and human endothelial cells by suppressing VEGFR1, VEGFR2, and PKC-mediated MAP kinase. ***Food Sci Nut*** 1 (2013) 74–82.

[17] NegrãoR, DuarteD, Costa Rand Soares R, Soxanthohumol modulates angiogenesis and inflammation via vascular endothelial growth factor receptor, tumor necrosis factor alpha and nuclear factor kappa B pathways. ***BioFactors*** 6 (2013) 608–622.

[18] Rivilis I, Milkiewicz M, Boyd P, Goldstein J, Brown M, Egginton S, Hansen F, Hudlicka O, Haas T, Different involvement of MMP-2 and VEGF during muscle stretch versus shear stress induced angiogenesis. ***Am J Physiol*** 4 (2002) 1430-1438.

[19] Kosmidou I, Xagorari A, Roussos C, Papapetropoulos A, Reactive oxygen species stimulate VEGF production from C_2C_{12} skeletal myotubes through a PI3K/Akt pathway. ***Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*** 280 (2001) L585-L592.

[20] Gu JW, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH, Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. ***BMC Physiol*** 4 (2004) 2.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-15]

Research paper

Effect of cinnamon-extract supplementation on VEGF and Endostatin level in hind leg muscle of aged rats after one session of exhaustive exercise

Maryam Nourshahi[1], Fataneh Farahmand[*1], Mohamad Reza Bigdeli[2]

1. Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
2. Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: 27 June 2015 Accepted: 21 December 2015

Abstract

Introduction: The purpose of this study was to assess effect of cinnamon extract supplementation on VEGF and Endostatin protein level in hind leg muscle of aged rats after one session of exhaustive exercise**.**

Methods: Thirty two aged male Wistar rats were subdivided into four groups randomly: exhaustive exercise (EX, n = 8), cinnamon extract (CE, n = 8), cinnamon extract and exhaustive exercise (CE-Ex, n = 8) and control without exhaustive exercise (n = 8). CE and CE-EX groups received (200 mg/kg) cinnamon extract by intra-gastric intubation for 14 days. CE-EX groups and EX performed an exhaustive running test on a treadmill. In the first 10 min, the animals walked on the treadmill at a speed of 10 m/min to warm up. The speed was then increased by 2 m/min every 2 min, till reaching the maximum speed of 28 m/min. The rats were then anesthetized immediately and 4h after trial, and SOL and EDL muscles were removed. VEGF and Endostatin protein level were measured in the muscles by western blot method. Data were analyzed by independent t-test and one-way analysis of variance (ANOVA).

Results: VEGF decreased immediately ($p \leq 0.05$) and increased 4 h after exercise in SOL muscle ($p \leq 0.05$) of EX group. Endostatin increased immediately and 4 h after exercise in SOL muscle of EX group ($p \leq 0.05$). VEGF decreased and Endostatin increased in SOL muscle of CE group. VEGF/Endostatin decreased in EDL muscle of all groups.

Conclusion: Cinnamon extract supplementation inhibited angiogenesis in CE group in SOL muscle but was not inhibited 4 h after exercise in CE-EX group. The raise in VEGF level 4 h after exercise indicates that exercise can overcome the inhibitory effects of cinnamon on angiogenesis.

Keywords: Aging, Angiogenesis, Antioxidant, Endostatin, Exhaustive exercise

Please cite this article as follows:
Nourshahi M, Farahmand F, Bigdeli MR, Effect of cinnamon-extract supplementation on VEGF and Endostatin level in hind leg muscle of aged rats after one session of exhaustive exercise. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 1 (2017) 176-184.

*Corresponding author e-mail: fataneh.farahmand69@gmail.com
Available online at: http://ijpp.phypha.ir
E-mail: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-15]