



Original Article

## The Effect of High-Intensity Interval Training in Combination with Hawthorn Extract Consumption on Cardiac Fibrosis and Inflammatory Markers in Heart Tissue of Elderly Rats

M. Mokhtaba<sup>1</sup>, M. Kargar Frad<sup>2\*</sup> , F. Chehelcheraghi<sup>3</sup>, A. Nazari<sup>4</sup>

1. Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2. Professor in Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

3. Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, IR Iran.

4. Associate Professor, Razi Herbal Medicines Research Center, Department of Physiology, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

**Received: 09/10/2023, Revised: 17/12/2023, Accepted: 26/12/2023**

### Abstract

Aging is associated with increased in systemic inflammation and fibrosis in heart tissue. Both regular exercise and hawthorn plant are known to modulate these conditions effectively. This study aimed to investigate the impact of high-intensity interval training (HIIT) combined with hawthorn extract consumption on cardiac fibrosis and inflammatory markers in the heart tissue of elderly rats. In an experimental study, 36 elderly male rats aged  $21 \pm 2$  months were prepared and randomly divided into four equal groups. The exercise intervention consisted of five HIIT training sessions per week, coupled with administration of 100 mg/kg hawthorn extract via gavage for eight weeks. Samples were collected at the end of the intervention period to measure TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  levels, and the extent of fibrosis in heart tissue. Data analysis was conducted using analysis of variance (ANOVA), Bonferroni post hoc test, and Image J software. The findings showed that there was a significant decrease in the tissue concentrations of IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$  and the amount of fibrosis among the research groups. Both research interventions (high-intensity interval training and hawthorn extract consumption) led to a significant decrease in the tissue concentration of TNF $\alpha$  and IL1 $\beta$  in comparison with the control group. Additionally, the exercise combined with hawthorn extract group exhibited the most pronounced reduction in the amount of fibrosis. However, according to the Bonferroni test results, there was a significant difference between the exercise+extract group compared to both the exercise-only group and the extract-only group in reducing fibrosis. This suggests that combining HIIT training with hawthorn consumption has a stronger effect on reducing inflammation and fibrosis in elderly rats.



**Key words:** HIIT Exercise Training, Hawthorn Extract, Fibrosis, Inflammation, Interleukin 1 Beta, Tumor Necrosis Factor Alpha

\* Corresponding Author: M. Kargarfard, Tel: +98- 9131150612, E-mail:

**How to Cite:** Mokhtaba, M; Kargar Frad, M; Chehelcheragh, F. Nazari, A. (2024). The Effect of High-Intensity Interval Training in Combination with Hawthorn Extract Consumption on Cardiac Fibrosis and Inflammatory Markers in Heart Tissue of Elderly Rats. *Sport Shysiology*, 15(59), 35-54. In Persian.

## Extended Abstract

### Background and Purpose

Aging is indeed a complex process that impacts tissue and cellular functions, elevating susceptibility to various diseases including neurodegenerative, cardiovascular, metabolic, musculoskeletal, and immune-related conditions. While advancements in modern medicine have enhanced human health and lifespan, chronic illnesses now pose significant challenges, leading to disability and mortality among older individuals. Contemporary research on aging strives to elucidate how both internal and external factors influence the aging process (1). Aging indeed contributes to degenerative pathologies that can impair tissue and cellular functions. In the context of heart health, aging is a significant factor in the development of fibrotic heart diseases. Age-related processes such as cellular senescence, elevated levels of pro-inflammatory cytokines like IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ , dysfunctional autophagy, and mitochondrial impairment are interconnected biological mechanisms. These processes collectively reduce the regenerative capacity of the aging heart and contribute to the development of cardiac fibrosis (2). Recent studies have indeed highlighted the potential benefits of reducing pro-inflammatory cytokine levels in mitigating fibrosis in heart tissue (3, 4). Therefore, the aim of this study was to investigate how high-intensity interval training (HIIT) combined with hawthorn extract consumption affects cardiac fibrosis and inflammatory markers in heart tissue of elderly rats.

### Materials and Methods

36 elderly male rats aged  $21 \pm 2$  months were prepared and divided into four groups (9 rats in each group): Extract of hawthorn and training, training, extract of hawthorn and control. At the beginning, all rats underwent a one-week acclimatization period to run on a treadmill designed for rats. During the first week of training, rats were individually placed into a treadmill lane at a 0° incline for a total of 10 min. The exercise protocol included five sessions of HIIT training per week. Each HIIT training session included 4 minutes of low-speed running at 15 m/min (45–55% VO<sub>2</sub>max), followed by 1 minute of high-speed running at 25 m/min (90–95% VO<sub>2</sub>max) for 9 repetitions, and a cool-down period at a constant speed of 10 m/min for 1 minute (5). Hawthorn extract, administered at a dose of 100 mg/kg, was given via gavage for eight weeks (6). Rats were anesthetized 24 hours after the last training session following a 12-hour fast. Anesthesia was induced by intraperitoneal injection of ketamine (50-30 mg/kg) and xylazine (3-5 mg/kg). The heart muscle tissue was quickly dissected and weighed using a digital scale. After dissection, the findings were immediately transferred to liquid nitrogen and subsequently stored in a freezer at -80°C until further analysis in the laboratory. The levels of TNF $\alpha$  and IL1 $\beta$  in heart tissue were measured using the ELISA method. Additionally, the amount of fibrosis in heart tissue was assessed using Masson's trichrome staining method. The Data

were analyzed using Shapiro-Wilk tests, followed by one-way analysis of variance. Post hoc comparisons were conducted using the Bonferroni test, with significance set at  $p < 0.05$ .

### Results

The findings showed a significant decrease in the tissue concentrations of IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , as well as the amount of fibrosis between the research groups. Both research interventions led to a significant decrease in the tissue concentration of TNF $\alpha$  ( $P=0/001$ ) and IL1 $\beta$  ( $P=0/001$ ), as well as the extent of fibrosis ( $P=0/001$ ) compared to the control group. Additionally, the exercise+extract group exhibited the greatest reduction in the amount of fibrosis ( $P = 0.001$ ). However, the results of the Bonferroni test showed a significant difference between the exercise+extract group in comparison with the exercise group ( $P=0/020$ ) and the extract group ( $P=0/032$ ) in reducing the amount of fibrosis.

### Conclusion

The results indicated that hawthorn supplementation combined with HIIT training resulted in a significant reduction in inflammatory markers, including IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$ , as well as in the amount of fibrosis in the heart tissue of rats. It was also observed that both hawthorn extract and HIIT exercise individually can modulate the expression levels of inflammatory markers and reduce the amount of fibrosis in the heart tissue of aged rats. Furthermore, combining exercise with hawthorn extract resulted in more pronounced modulating effects in aged rats.

### The Article Message

The results of this study demonstrated that HIIT training and hawthorn extract administration reduced pro-inflammatory factors (TNF $\alpha$  and IL1 $\beta$  levels) and potentially decreased cardiac fibrosis in aged rats. If these positive effects translate to human subjects, HIIT training and hawthorn extract could serve as effective non-pharmacological interventions to mitigate aging-related complications.

### Ethical Considerations

#### Compliance with Research Ethical Guidelines

The animal study protocol was approved by the Ethics Committee of Isfahan university (Ethics Code: IR. UI. 1402,059)

### Funding

This study received no funding from public, commercial, or nonprofit organizations.

### Authors' Contributions

All authors have participated in designing, implementing and writing all parts of the present study.

### Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest

### Acknowledgement

This article is extracted from the thesis of the professional doctoral course of sports physiology at Isfahan University. The authors express their sincere gratitude to the respected staff of Avin Stem Gene Research Institute and the Faculty of Physical Education and Sports Sciences of Isfahan University for their valuable assistance in conducting and enhancing the quality of this research.

1. Guo J, Huang X, Dou L, Yan M, Shen T, Tang W, et al. Aging and aging-related diseases: From molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7(1):391.
2. Murtha LA, Morten M, Schuliga MJ, Mabotuwana NS, Hardy SA, Waters DW, et al. The role of pathological aging in cardiac and pulmonary fibrosis. *Aging and disease*. 2019;10(2):419.
3. Sygitowicz G, Maciejak-Jastrzębska A, Sitkiewicz D. A review of the molecular mechanisms underlying cardiac fibrosis and atrial fibrillation. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(19):4430.
4. Hamza AA, Lashin FM, Gamel M, Hassanin SO, Abdalla Y, Amin A. Hawthorn herbal preparation from *Crataegus oxyacantha* attenuates in vivo carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis via modulating oxidative stress and inflammation. *Antioxidants*. 2020;9(12):1173.
5. Sun L, Li F-H, Li T, Min Z, Yang L-D, Gao H-E, et al. Effects of high-intensity interval training on adipose tissue lipolysis, inflammation, and metabolomics in aged rats. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2020;472:245-58.
6. Ranjbar K, Zarrinkalam E, Salehi I, Komaki A, Fayazi B. Cardioprotective effect of resistance training and *Crataegus oxyacantha* extract on ischemia reperfusion-induced oxidative stress in diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;100:455-60.





نوع مقاله: پژوهشی

## تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا در ترکیب با مصرف عصاره زالزالک بر میزان فیبروز قلبی و نشانه‌های التهابی در بافت قلب رت‌های سالمند

میلاذ مختبا<sup>۱</sup>، مهدی کارگر فرد<sup>۲</sup>، فرزانه چهلمچراغی<sup>۳</sup>، افشین نظری<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران (نویسنده مسئول).
۳. استادیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.
۴. دانشیار، گروه فیزیولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۲/۰۷/۱۷، **تاریخ اصلاح:** ۱۴۰۲/۰۹/۲۶، **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۱۰/۰۵

### چکیده

**اهداف:** سالمندی با افزایش التهاب سیستمیک و میزان فیبروز در بافت قلب همراه است. فعالیت ورزشی منظم و گیاه زالزالک می‌تواند در تعدیل التهاب و فیبروز موثر باشند. هدف این پژوهش تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) در ترکیب با مصرف عصاره زالزالک بر میزان فیبروز قلبی و نشانه‌های التهابی در بافت قلب رت‌های سالمند بود. **مواد و روش‌ها:** در یک مطالعه تجربی تعداد ۳۶ سالمند (۲ ± ۲۱ ماه) تهیه شد و به طور تصادفی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. مداخله تمرینی شامل پنج جلسه تمرین HIIT در هفته و دادن عصاره زالزالک به میزان ۱۰۰ میلی-گرم/کیلوگرم به روش گاواژ به رت‌ها به مدت هشت هفته بود. نمونه‌گیری پس از اتمام دوره برای سنجش  $TNF\alpha$ ،  $IL1\beta$  و میزان فیبروز انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس، آزمون بونفرونی و نرم افزار Image J مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. **یافته‌ها:** یافته‌ها نشان داد که کاهش معنی‌داری در غلظت‌های بافتی  $TNF\alpha$ ،  $IL1\beta$  و میزان فیبروز میان گروه‌های تحقیق وجود داشت. هر دو مداخله‌ی تحقیق منجر به کاهش معنی‌داری در غلظت بافتی  $TNF\alpha$  و  $IL1\beta$  در مقایسه با گروه کنترل گردید. همچنین، بیشترین کاهش در میزان فیبروز در گروه تمرین+عصاره مشاهده شد. با این حال، نتایج آزمون بونفرونی تفاوت معنی‌داری بین گروه ترکیب تمرین+عصاره در مقایسه با گروه تمرین و گروه عصاره در کاهش میزان فیبروز نشان داد. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد ترکیب تمرین HIIT و مصرف زالزالک تأثیر بیشتری بر کاهش التهاب و میزان فیبروز در افراد سالمند دارد.

**واژگان کلیدی:** تمرین ورزشی HIIT، عصاره زالزالک، فیبروز، التهاب، اینترلوکین ۱ بتا، فاکتور نکروز توموری آلفا.

\* Corresponding Author: M. Kargarfard, Tel: +98- 9131150612, E-mail:

**How to Cite:** Mokhtaba, M; Kargar Frad, M; Chehelcheragh, F. Nazari, A. (2024). The Effect of High-Intensity Interval Training in Combination with Hawthorn Extract Consumption on Cardiac Fibrosis and Inflammatory Markers in Heart Tissue of Elderly Rats. *Sport Physiology*, 15(59), 35-54. In Persian.



**Copyright:** © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## مقدمه

در قرن حاضر با بهتر شدن شرایط زندگی، ارتقاء سلامت جامعه، افزایش امید به زندگی و کاهش آهنگ تولد باعث شده جمعیت سالمندان تا حد زیادی افزایش یابد. سالمندی یکی از پدیده‌های مطرح در عرصه بهداشت و سلامت جهانی به شمار می‌رود که فرایندی جهانی، ذاتی، پیشرونده و آسیب‌رسان است و با انباشت تدریجی آسیب‌های مختلف، کاهش کارایی عملکردی و هموستاز سلول‌ها و بافت‌ها در گذر زمان همراه است (۱، ۲). افزایش سن، یکی از عوامل خطر ساز و اصلی ابتلاء به اختلالات قلبی - عروقی است و باعث ایجاد تغییرات ساختاری در قلب م شود که با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی و اختلال ظرفیت عملکردی قلب همراه است. این تغییرات، در اثر فیبروز شدن بافت قلب در اثر تجمع کلاژن در ماتریکس خارج سلولی پدید می‌آید. شناخت عوامل درگیر و اثرگذار بر آن جهت بالا بردن کیفیت زندگی سالمندان از اهمیت بالایی برخوردار است (۳). علاوه بر این سالمندی به تنهایی تغییرات متعددی را در قلب انسان در سطح مولکولی و عملکردی پدید می‌آورد. مهمترین تغییرات وابسته به سن در هیپرتروفی بطن چپ، فیبروز و از دست رفتن اعصاب و وقایع مخربی است که منجر به اختلال عملکرد دیاستولیک می‌شود (۴). فیبروز<sup>۱</sup> مشخصه‌ای از سالمندی در ارگان‌های مختلف مانند کلیه‌ها، کبد، ریه، پانکراس و قلب و یکی از عوامل پیدایش اختلال در عملکرد یک ارگان در اثر بیماری‌ها و یا نتیجه یک واکنش خارج از کنترل است که نهایتاً آسیب حاد بافتی می‌باشد. علت آن ممکن است پاتولوژیک یا غیر پاتولوژیک و نشانه‌اش تجمع بیش از حد اجزاء ماتریکس خارج سلولی به ویژه کلاژن ۱،۳ و گلیکوپروتئین‌های وابسته به آن در بافت باشد (۵).

در سیستم قلبی - عروقی رسوب وابسته به سن و فزاینده کلاژن در دیواره عروق، فضای بینابینی عضله قلب و دور عروق قلبی منجر به کاهش کمپلیانس قلبی و شریانی می‌گردد. رسوب بیش از اندازه ماتریکس خارج سلولی در قلب با خشکی (سفتی) میوکارد در عملکرد قلبی اختلال ایجاد می‌کند. در حقیقت فیبروز می‌تواند، هم به علت افزایش سنتز و هم کاهش تجزیه اجزاء ماتریکس خارج سلولی باشد (۶-۸). بنابراین شناخت عوامل موثر بر فیبروز جهت کاهش آثار منفی فیبروز اهمیت خاصی دارد؛ یکی از این عوامل التهاب است که همیشه با درجاتی از التهاب همراه است. مکانیسم مولکولی منجر به مرگ سلولی در اثر التهاب در سال‌های اخیر به طور فزاینده‌ای روشن شده و به عنوان « نکرو التهاب<sup>۲</sup> » شناخته می‌شود. هرچند که التهاب هم در بازسازی بافت و هم در ایجاد فیبروز نقش دارد، با این حال، التهاب نه پیش نیازی برای بازسازی بافت است و نه اینکه حتماً منجر به فیبروز می‌شود (۹). اما مشخص شده که میزان زیاد و طولانی مدت التهاب می‌تواند اثرات مخربی بر سیستم قلبی عروقی، شروع و پیشرفت فیبروز قلبی داشته باشد (۱۰-۱۲).

سالمندی با التهاب سیستمیک مزمن درجه پایین همراه است که با افزایش سایتوکاین‌های پیش التهابی و افزایش نفوذ ماکروفاژها در بافت‌های محیطی مشخص می‌شود (۱۳). التهاب مزمن در ایجاد و پیشرفت بیماری‌های قلبی - عروقی و اختلالات متابولیکی قلبی، چاقی و مقاومت به انسولین نقش دارد (۱۴). تحقیقات نشان دادند که فعال شدن فاکتور هسته‌ای  $KB^3$  (Nf- $\kappa$ B) یک عامل مهم در ایجاد التهاب و تنظیم شاخص‌های التهابی در دوران سالمندی است (۱۵). در این رابطه مشخص شده که مسدود کردن مسیر Nf- $\kappa$ B می‌تواند منجر به کاهش التهاب در افراد سالمند شود (۱۶). مشخص شده

1. Fibrosis
2. Necroinflammation
3. Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells

که فاکتور نکروز توموری آلفا<sup>۱</sup> (TNF $\alpha$ ) و اینترلوکین ۱ بتا<sup>۲</sup> (IL1 $\beta$ ) دو تا از فاکتورهای پیش التهابی که میزان فعالیت آنها توسط NF-kB تنظیم می‌شوند می‌توانند فرایندهای منجر به فیبروز را شروع و تشدید کنند. (۱۵، ۱۷، ۱۸). بر اساس گزارش‌های تحقیقاتی، عوامل بسیاری می‌توانند بر ایجاد و پیشگیری بیماری‌های قلبی - عروقی موثر باشند. فقدان فعالیت بدنی از جمله عوامل خطر مهم اصلاح‌پذیر بیماری‌های قلبی - عروقی است (۱۹). یافته‌های مطالعاتی بسیاری، حاکی از ابتلاء کمتر افراد فعال نسبت به افراد غیرفعال به بیماری‌های قلبی - عروقی هستند. نتایج مطالعات حیوانی هم بر اثرات مفید فعالیت بدنی بر مسیرهای سیگنالینگ هیپرتروفی میوکارد و فیبروز بافت قلبی دلالت دارند (۲۰). در عین حال، مداخلات ورزشی راهبردی کم هزینه و بی‌خطری در پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی - عروقی به شمار می‌روند (۲۱، ۲۲) و انجام فعالیت ورزشی منظم با افزایش عملکرد قلبی و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های عروق کرونر و نارسایی قلبی، افزایش ظرفیت پرپیوژن میوکارد و بهبود متابولیسم سلولی قلب همراه است (۲۳، ۲۴). تقویت بطن چپ و عضله قلبی با تمرین مناسب، عملکرد قلبی افراد سالم را بهبود می‌بخشد و با کمک به افزایش تحمل ایسکمی می‌تواند اثر مفیدی بر بقاء این بیماران داشته باشد (۲۵، ۲۶). اخیراً، تمرینات ورزشی تناوبی با شدت بالا<sup>۳</sup> (HIIT)، نه تنها برای کمک به مربیان در تنظیم برنامه‌های تمرین برای ورزشکاران نخبه و تفریحی (۲۷)؛ بلکه نظر صاحب‌نظران پیشگیری را هم به خود جلب کرده است (۲۸). هسو و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که انجام ۲ تا ۳ بار تمرینات HIIT با شدت ۸۰٪ می‌تواند میزان فیبروز در افراد مسن کاهش دهد (۲۹).

با بررسی‌های انجام شده روی نقش استرس اکسیداتیو و التهاب در شروع و پیشرفت بیماری مرتبط با سالمندی، استفاده از ترکیبات دارای خواص ضد التهابی و ضد استرس اکسایشی جهت پیشگیری یا درمان مورد توجه قرار گرفته است. همچنین با توجه به عوارض داروهای شیمیایی، مطالعات بیشتری در جهت یافتن درمان‌های بی‌خطرتر و مؤثرتر لازم است. امروزه استفاده از داروهای با منشأ گیاهی، که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بیشتر با عوارض جانبی کمتر، اهمیت بالینی زیادی در درمان و پیشگیری از بیماری پیدا کرده است. طبق برآورد سازمان بهداشت جهانی، در کشورهای در حال توسعه، نزدیک به چهار میلیارد نفر از داروهای گیاهی به عنوان منبع اصلی مراقبت‌های بهداشتی استفاده می‌کنند (۳۰). لذا استفاده از این روش درمانی در داروهای مکمل و جایگزین در اغلب کشورها مورد استقبال گسترده قرار گرفته است (۳۱). زالزالک از جمله ترکیبات گیاهی است که امروزه در پیشگیری و درمان این بیماری‌ها در اروپا و چین کاربرد درمانی دارد. در بین ترکیبات شیمیایی مختلفی که در میوه، برگ و گل‌های زالزالک وجود دارد، ساختارهای فلاونوئید و الیگومریک پلی‌سیانید از ترکیبات مهم زیست شیمیایی‌اند که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی هستند (۳۲-۳۵). حمزه و همکاران در مطالعه‌ای مشخص کردند که زالزالک دارای اثرات محافظت‌کننده قلبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد فشار خون است (۳۶). همچنین تحقیقات نشان دادند که عصاره زالزالک می‌تواند باعث کاهش در عوامل التهابی مانند TNF $\alpha$  و IL1 $\beta$  و تنظیم واسطه‌های دخیل در ایجاد التهاب از جمله NF-kB و بهبود عملکرد سلول‌های اندوتلیال، گردش NO، گردش کلسیم و روند فیبروز می‌شود (۳۶-۳۸). هرچند مشخص شده که تمرینات ورزشی HIIT برای سالمندان سودمند است اما ممکن است در صورت همراهی با مصرف عصاره زالزالک اثرات سودمندتری داشته باشد. اگر چه هنوز بهترین برنامه‌ی تمرینی

1. Tumor Necrosis Factor Alpha
2. Interleukin-1 Beta
3. High Intensity Interval Training

و میزان مصرف عصاره زالزالک نامشخص است و نیاز به تحقیقات بیشتری دارد (۳۷، ۳۹، ۴۰). با توجه به موارد فوق الذکر، محقق به دنبال پاسخگویی به این سوال است که آیا مصرف عصاره زالزالک به همراه تمرین ورزشی منظم بر فاکتورهای موثر بر سلامت قلب تاثیر دارد؟ بنابراین این تحقیق با هدف ارزیابی، اثرات هشت هفته تمرین HIIT و مصرف عصاره زالزالک بر میزان فیروز و نشانگرهای التهابی در بافت قلب رت سالمند طراحی شده است. توجه به نتایج چنین تحقیقاتی، می توان راهبردهای مفیدی برای جمعیت بزرگسالان جامعه جهت ارتقاء سطح سلامت و متعاقب آن پیشگیری از بیماری های مزمن ارائه شود.

### مواد و روش ها

در این پژوهش ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار  $21 \pm 2$  ماهه با میانگین وزن  $45 \pm 50$  به عنوان نمونه تحقیق از مرکز نگهداری حیوانات انستیتو پاستور ایران تهیه شد. معیار ورود به مطالعه حاضر شامل نر بودن رت ها، قرار گرفتن در محدوده وزنی مورد نظر، سلامت کامل و عدم استفاده از هرگونه دارو بود. معیار خروج از مطالعه عدم اجرای پروتکل تمرینی و مصرف نکردن عصاره و آسیب حین اجرای تمرین بود. حیوانات مورد آزمایش در گروه های پنج تایی در قفس های پلی کربنات در آزمایشگاه تحقیقات حیوانی دانشگاه علوم پزشکی لرستان نگهداری شدند. دمای محیط  $22 \pm 2$  درجه سانتیگراد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوا  $55 \pm 5$  درصد بود. طی دوره پژوهش حیوانات غذا را به صورت پلت (ساخت خوراک دام پارس) استفاده می کردند و آب مورد نیاز به صورت آزاد در دسترس حیوانات قرار داده شد. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید و نحوه فعالیت روی نوارگردان به طور تصادفی به چهار گروه ۹ تایی (کنترل، تمرین، عصاره، تمرین و عصاره) تقسیم شدند. همه آزمایش ها بر اساس خط مشی های قرارداد هلسینکی اجرا شد همه شیوه های مداخله های درمانی و ورزشی توسط کمیته اخلاق دانشگاه اصفهان با شناسه کد اخلاق IR.UI.REC.۱۴۰۲.۰۵۹ تایید شد.

### پروتکل پژوهش

#### برنامه تمرینی

ابتدا در طول مرحله آشناسازی حیوانات ۵ روز در هفته به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰-۵ متر در دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند. برنامه تمرینی شامل دو مرحله شامل: ۴ دقیقه دویدن با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه در هفته اول بود که در هفته ششم به ۴ دقیقه با سرعت ۱۵ متر ( $VO_{2max}$  % ۴۵-۵۵) در دقیقه سپس ۹ تکرار (هر تکرار: یک دقیقه با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه ( $VO_{2max}$  % ۹۰-۹۵) دنبال آن یک دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای سرد کردن) رسید. این روند تا پایان هفته هشتم حفظ شد (۴۱، ۴۲).

#### عصاره زالزالک و نحوه مصرف

عصاره زالزالک از شرکت دینه دارو تهیه شد. میزان ماده موثر آن ۱۴/۵ تا ۱۵ میلی گرم / ۱۰۰ میلی گرم بود. پودر گل و جوانه های تازه خالص زالزالک به میزان ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به روش گاواژ به هر رت داده شد (۴۳).

#### تشریح رت ها

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و تیمار با مکمل، رت ها پس از ۱۴ ساعت ناشتایی با تزریق درون صفاقی ماده بیهوشی ترکیبی از کتامین ( $50-30$  mg/kg) و زایلازین ( $5-3$  mg/kg) بیهوش شدند. پس از تأیید بیهوشی (توسط عدم عقب کشیدن



پا)، بافت‌ها جدا سازی شده، وارد تیوب‌های مخصوص گردیده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد، که در نهایت جهت آنالیز به آزمایشگاه منتقل شدند. برای اندازه‌گیری سطوح اینترلوکین ۱ بتا و فاکتور نکروز توموری آلفا از روش الایزا و برای اندازه‌گیری میزان فیبروز از روش رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون استفاده شد.

### ارزیابی مقدار پروتئین به روش برادفورد

به منظور تعیین مقدار پروتئین در نمونه‌ها از روش برادفورد استفاده شد. بدین منظور مقدار ۲۰ میکرولیتر نمونه‌ی هموزن بافتی (نمونه) و ۲۰ میکرولیتر آب مقطر (بلانک) به صورت دو بار تکرار در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه شد. سپس به نمونه‌ها و بلانک مقدار ۴۰ میکرولیتر معرف برادفورد و ۱۴۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد و پس از مخلوط نمودن با استفاده از دستگاه خوانشگر صفحه<sup>۱</sup> (مدل Bioteck ساخت آمریکا) با تکنیک الایزا جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۹۵ نانومتر قرائت گردید. به منظور تعیین غلظت پروتئین در نمونه‌ها از منحنی استاندارد پروتئین سرم آلبومین گاوی با غلظت‌های ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. پس از رسم منحنی استاندارد تغییرات جذب نمونه‌های استاندارد در برابر غلظت آن‌ها، فرمول خط، استخراج شد و با استفاده از فرمول خط، غلظت نمونه‌های مجهول محاسبه گردید (۴۴).

### رنگ‌آمیزی برش‌های بافتی توسط تری کروم ماسون

این روش برای شناسایی رشته‌های کلاژن در بافت‌هایی مانند پوست قلب و غیره به کار می‌رود و براساس تثبیت بافت در فرمالین و برش قالب پارافینی یا برش‌های انجمادی با دستگاه فروزن سکشن نیز کارایی دارد. در این رنگ‌آمیزی رشته‌های کلاژن آبی تیره یا بنفش و کاردیومیوسیت‌ها قرمز رنگ و هسته‌ها سیاه مشاهده می‌شوند. برش‌های پارافینی بطن چپ با ضخامت ۵ میکرون در رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون با محلول ثبوتی فرمالین یا بوئن ۱۰ درصد ثابت سازی انجام گرفت. استفاده از این تثبیت‌کننده طی مراحل تهیه بافت منجر به نتایج بهتری طی رنگ‌آمیزی می‌شود (۴۵).

### آنالیز آماری

پس از تایید نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک، تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار آماری SPSS۲۴ انجام شد. نتایج به صورت  $Mean \pm SEM$  گزارش گردید و داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) ارزیابی شد. همچنین از آزمون تعقیبی بونفرونی<sup>۲</sup> برای تعیین اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد. لازم به ذکر است در تمامی عملیات آماری سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

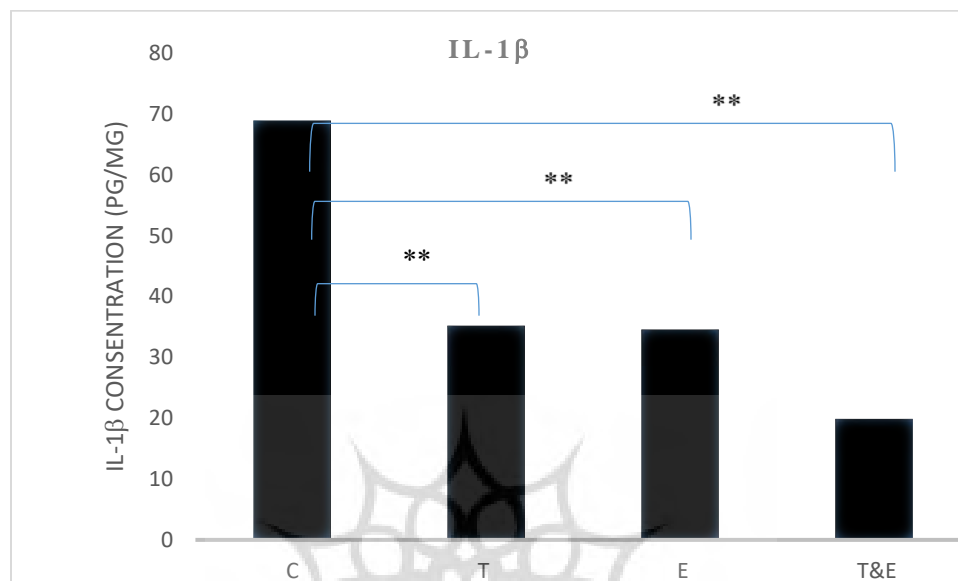
## نتایج

### سطوح اینترلوکین ۱ بتا

بر اساس نتایج تحلیل واریانس، کاهش معنی‌داری در شاخص  $IL1\beta$  گروه‌های مداخله در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ( $P=0/001$ ) (شکل ۱). علاوه بر این، نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی تفاوتی در کاهش شاخص  $IL1\beta$  بین گروه تمرین+عصاره با

1. Plate Reader
2. Bonferroni

گروه های تمرین ( $P=0/63$ ) و عصاره ( $P=0/80$ ) نشان نداد. علاوه بر این، تفاوت معنی داری در کاهش  $IL1\beta$  بین گروه عصاره و گروه تمرین نیز مشاهده نشد ( $P=1/00$ ).

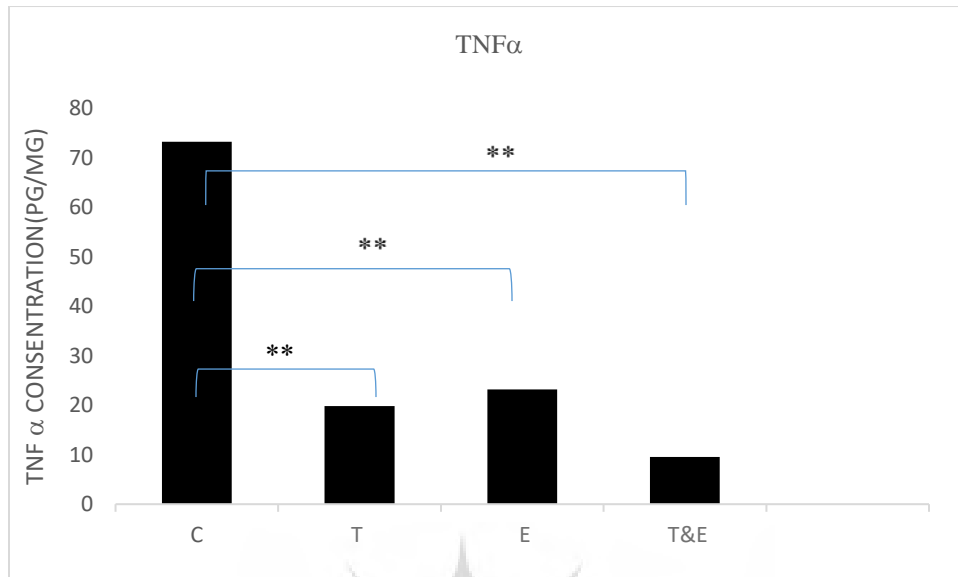


شکل ۱- مقایسه بین میانگین غلظت  $IL1\beta$  بین گروه‌ها. \* اختلاف معنی داری در سطح  $P \leq 0/05$  وجود دارد. \*\* اختلاف معنی داری در سطح  $P \leq 0/05$  وجود دارد. C، گروه کنترل؛ T، گروه تمرین؛ E، گروه عصاره؛ TE، گروه تمرین و عصاره

**Figure 1- Comparison between the mean concentration of  $IL1\beta$  between groups. \* There is a significant difference at the  $P \leq 0.05$  level. \*\* There is a significant difference at the  $P \leq 0.01$  level. C, control group; T, training group; E, extract group; TE, exercise group and extract**

#### سطوح فاکتور نکروز توموری آلفا

بر اساس نتایج تحلیل واریانس، کاهش در شاخص  $TNF\alpha$  گروه‌های مداخله در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ( $P=0/001$ ) (شکل ۲). علاوه بر این، نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی تفاوتی در کاهش شاخص  $TNF\alpha$  بین گروه تمرین+عصاره با گروه‌های تمرین ( $P=0/16$ ) و عصاره ( $P=0/71$ ) نشان نداد. علاوه بر این، تفاوتی در کاهش  $TNF\alpha$  بین گروه عصاره و گروه تمرین نیز مشاهده نشد ( $P=1/00$ ).



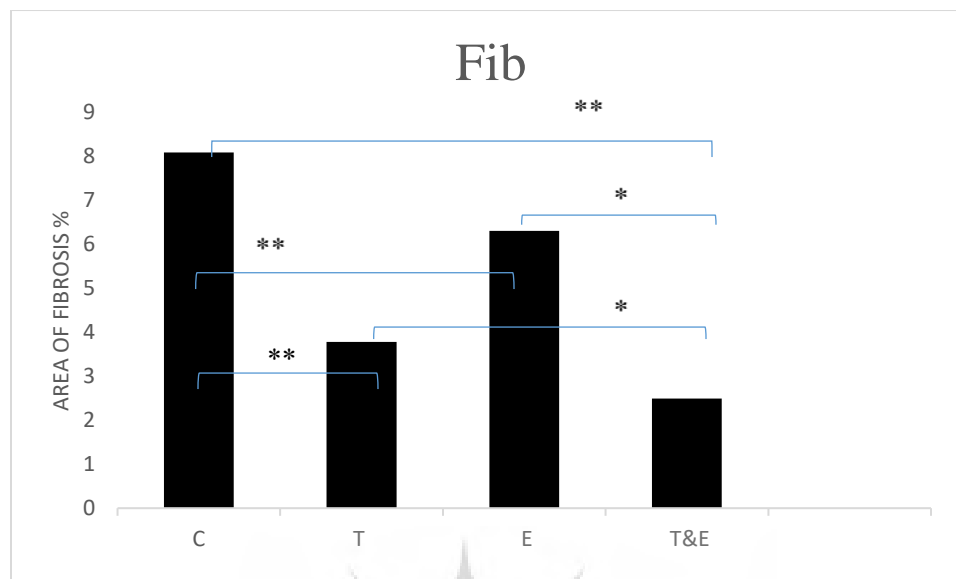
شکل ۲- مقایسه بین میانگین غلظت  $TNF\alpha$  بین گروه‌ها. \* اختلاف معنی‌داری در سطح  $P \leq 0.05$  وجود دارد. \*\* اختلاف معنی‌داری در سطح  $P \leq 0.01$  وجود دارد. C، گروه کنترل؛ T، گروه تمرین؛ E، گروه عصاره؛ TE، گروه تمرین و عصاره

Figure 2- Comparison between the mean concentration of  $TNF\alpha$  between groups. \* There is a significant difference at the  $P \leq 0.05$  level. \*\* There is a significant difference at the level of  $P \leq 0.01$ . C, control group; T, training group; E, extract group; TE, exercise group and extract

### فیبروز

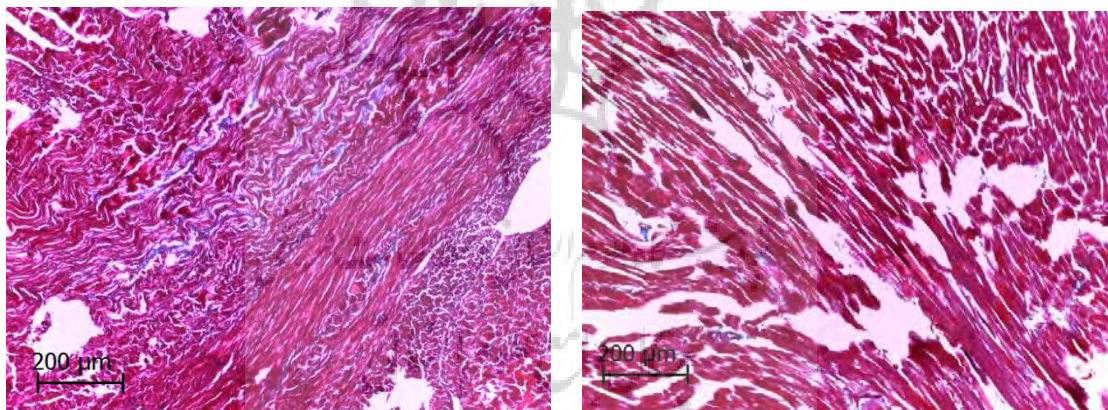
بر اساس نتایج تحلیل واریانس، کاهش در میزان فیبروز گروه‌های مداخله در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ( $P=0.001$ ) (شکل ۳ و ۴). علاوه بر این، نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی تفاوتی در کاهش میزان فیبروز بین گروه تمرین و عصاره با گروه‌های تمرین ( $P=0.020$ ) و عصاره ( $P=0.032$ ) نشان داد. همچنین، تفاوتی در کاهش فیبروز بین گروه عصاره و گروه تمرین نیز مشاهده نشد ( $P=1.00$ ).

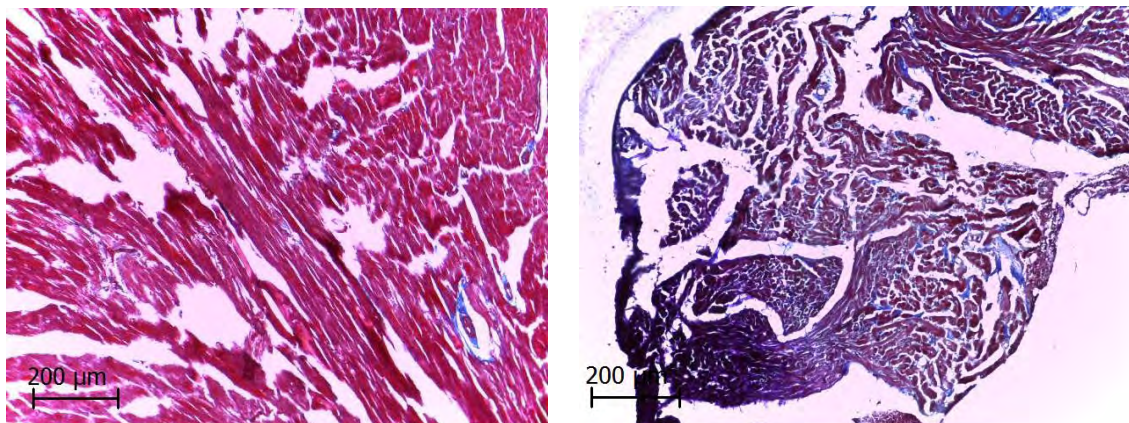
پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی  
پرتال جامع علوم انسانی



شکل ۳- مقایسه بین میانگین مسحت فیبروز بین گروه‌ها. \* اختلاف معنی‌داری در سطح  $P \leq 0.05$  وجود دارد. \*\* اختلاف معنی‌داری در سطح  $P \leq 0.01$  وجود دارد. C، گروه کنترل؛ T، گروه تمرین؛ E، گروه عصاره؛ TE، گروه تمرین و عصاره

**Figure 3- Comparison between the mean fibrosis smear between groups. \* There is a significant difference at the  $P \leq 0.05$  level. \*\* There is a significant difference at the level of  $P \leq 0.01$ . C, control group; T, training group; E, extract group; TE, exercise group and extract**





شکل ۴- برش‌های عرضی بافت قلب، بالا سمت راست گروه ورزش و عصاره، بالا سمت چپ گروه تمرین، پایین سمت راست گروه کنترل، پایین سمت چپ گروه عصاره

**Figure 4-** Transverse sections of the heart tissue, upper right side of the exercise and extract group, upper left side of the exercise group, lower right side of the control group, lower left side of the extract group

### بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تمرین HIIT و عصاره زالزالک، به تنهایی یا به صورت ترکیبی، بر میزان سطح پروتئین  $IL1\beta$ ،  $TNF\alpha$  و میزان فیبروز در بافت قلب رت‌های سالمند انجام گردید. نتایج اصلی مطالعه بیانگر این بود که سطح شاخص‌های التهابی  $IL1\beta$  و  $TNF\alpha$  در بافت قلب در تمام گروه‌های مداخله نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت و این کاهش در گروه ترکیبی تمرین + عصاره بیشتر بود. علاوه بر این، میزان فیبروز در بافت قلب تمام گروه‌های مداخله نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. میزان کاهش فیبروز نیز در گروه تمرین و عصاره نسبت به گروه تمرین و گروه عصاره معنی‌دار بود.

کاهش در شاخص‌های پیش التهابی  $TNF\alpha$  و  $IL1\beta$  بدنبال تمرین HIIT در تحقیق حاضر با یافته‌های خادمی و همکاران (۲۰۱۷)، هادیونو و همکاران (۲۰۱۹)، خلاقی و همکاران (۲۰۲۰) و هوشمند مقدم و همکاران (۲۰۲۱) همخوانی داشت (۴۶-۴۹). در حالی که با یافته‌های مطالعه احمدی‌زاده (۲۰۱۵) همسو نبود (۵۰). شاید یکی از دلایل تفاوت در نتایج ممکن است به نوع و اجرای پروتکل تمرینی مربوط باشد. در تحقیق حاضر پروتکل تمرینی پنج روز در هفته اجرا شد در حالی که در تحقیق احمدی‌زاده و همکاران پروتکل سه روز در هفته انجام شد. هم‌راستا با یافته‌های ما، لی سون و همکاران در تحقیقی به بررسی اثرات تمرینات تناوبی با شدت بالا بر روی التهاب در رت‌های مسن پرداختند. آنها نتیجه گرفتند که تمرینات HIIT می‌تواند تنظیم مطلوب‌تری در فعالیت ضد التهابی نسبت به تمرینات با شدت متوسط نشان دهد (۴۱). در مطالعه‌ای دیگر شاه‌زهی و همکاران گزارش داد که ورزش با شدت بالا در کاهش بیان ژن‌های پیش التهابی در بافت‌های قلب و کبد رت بسیار مفید است (۵۱).

علاوه بر این، در این تحقیق دریافتیم که فعالیت ورزشی می‌تواند افزایش سطوح  $IL1\beta$  و  $TNF\alpha$  ناشی از افزایش سن را کاهش دهد. پاسخ التهابی در طول پیری ممکن است از عوامل مهم در افزایش آسیب بافتی قلب باشد. فعالیت ورزشی می‌تواند التهاب

مزمین ناشی از پیری در قلب را کاهش دهد، بنابراین ممکن است به طور موثر از سلول‌ها در برابر آسیب‌های بافتی ناشی از پیری محافظت کند. در راستای نتایج به دست آمده، لیزا و همکاران گزارش داد که یک برنامه تمرین هوازی ۱۴ هفته‌ای منجر به سرکوب قابل توجه التهاب شریانی در رت‌های مسن شد که از کاهش قابل توجه سطح بیان IL1 و IL6، IFN $\gamma$  و TNF $\alpha$  مشهود است (۵۲). مشخص شده که تمرین HIIT می‌تواند گیرنده محلول TNF و آنتاگونیست گیرنده IL1 را افزایش دهد که افزایش این دو در نهایت منجر به کاهش IL1 $\beta$  و TNF $\alpha$  می‌شود. از طرف دیگر HIIT می‌تواند باعث کاهش ماکروفاژهای پیش التهابی که در تولید و افزایش IL1 $\beta$  و TNF $\alpha$  دخیل هستند را غیرفعال کند و از طرف دیگر باعث افزایش ماکروفاژهای ضدالتهابی ساکن عضله شود. این فرایند در نهایت منجر به کاهش التهاب می‌شود. جدا از مکانیسم‌های سلولی مشخص شده است که تمرین HIIT می‌تواند بر بافت چربی اطراف عروق تاثیر بگذارد و تولید فاکتورهای پیش التهابی را کاهش دهد (۵۳، ۵۴).

از دیگر نتایج حاضر در مورد کاهش شاخص‌های پیش التهابی TNF $\alpha$  و IL1 $\beta$  به دنبال مصرف عصاره زالزالک بود که با تحقیق لیو و همکاران (۲۰۲۰) و چونومی و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی داشت (۵۵، ۵۶). در تحقیقات مشخص شده که زالزالک می‌تواند واسطه Nf-KB را کاهش دهد و این اتفاق باعث کاهش فعالیت کاسپاز ۱ و nLRP3 می‌شود که در نهایت منجر به کاهش تولید فاکتورهای پیش التهابی و در آخر کاهش خود التهاب می‌شود. از طرفی کاهش Nf-KB فعالیت ماکروفاژها، سلول‌های T را کم می‌کند که منجر به کاهش تولید فاکتورهای التهابی از آنها می‌شود. از طرف دیگر، عصاره زالزالک بیان ژن‌های کموکاین و سایتوکین‌های درگیر شروع التهاب را کاهش می‌دهد و به طور کلی مشخص شده که عصاره زالزالک تنظیم ضد التهابی را می‌دهد (۳۷). در همین راستا یک مطالعه آزمایشگاهی بر روی رده سلولی ماکروفاژ موش نشان داد که عصاره آبی میوه زالزالک بیان سایتوکین‌های التهابی مانند اینترلوکین IL1 $\beta$ ، TNF $\alpha$  و IL6 را سرکوب می‌کند (۵۷). علاوه بر این، عصاره اتانولی دانه‌های زالزالک یک اثر مهار قوی NO و TNF $\alpha$  ایجاد می‌کند، از این رو، به عنوان یک منبع امیدوارکننده و قابل اعتماد به عنوان مهار کننده‌های التهاب در نظر گرفته می‌شود (۵۸).

در ارتباط با اثر بخشی تمرین HIIT و عصاره زالزالک با TNF $\alpha$  و IL1 $\beta$  در پژوهش حاضر، لیو همکاران (۲۰۲۱) همسو با نتایج تحقیق ما نشان دادند که تمرین و عصاره زالزالک می‌توانند باعث کاهش عوامل التهابی در کبد رت‌ها شود. آنها نشان دادند که تمرین و عصاره زالزالک می‌تواند از طریق مسیر سیگنالینگ SIRT1/AMPK/NF-kB باعث این کاهش شود (۵۹). این کاهش بیشتر در شاخص‌های التهابی ممکن است به دلیل هم افزایی تاثیر تمرین و عصاره زالزالک بر غیرفعال کردن عوامل دخیل در ایجاد التهاب از جمله کاسپاز ۱ و nLRP3 و فعال کردن میانجی‌هایی مانند گیرنده محلول TNF و آنتاگونیست گیرنده IL1 که از شروع التهاب جلوگیری می‌کنند باشد (۳۷، ۴۶).

نتایج پژوهش حاضر در مورد کاهش فیبروز به دنبال تمرین HIIT با تحقیق چیه هسو و همکاران (۲۰۲۳) همسو بود ولی با نتایج تحقیق هولووای و همکاران (۲۰۱۵) و یزدانی و همکاران (۲۰۲۰) همسو نبود. علت مغایرت نتایج پژوهش حاضر با تحقیق یزدانی ممکن است نوع آزمودنی و رژیم غذایی پرچربی باشد که به رت‌ها داده شده است. همسو نبودن نتایج پژوهش حاضر با تحقیق هولووای می‌تواند به دلیل نوع آزمودنی و پروتکل تمرینی باشد. آنها در تحقیق خود از رت‌هایی با فشار خون بالا استفاده کردند و پروتکل تمرینی آنها ۴ هفته بود که ممکن است همین باعث نتیجه‌گیری متفاوتی نسبت به پژوهش حاضر باشد (۲۹، ۶۰، ۶۱).

یک مکانسیم پیشنهادی برای تاثیر تمرین HIIT بر روی میزان فیبروز در بافت قلب این است که HIIT باعث افزایش سطح DNA متیل ترانسفراز ۱ (DNMT1) در فیبروبلاست‌های قلبی می‌شود و منجر به هیپرمتیلاسیون (ME) روی ژن زنجیره بسیار بلند acyl-CoA دهیدروژناز می‌شود. خاموش شدن ژن با کاهش بیان آسیل کوآ دهیدروژناز با زنجیره بسیار بلند<sup>۲</sup> (VLCAD) عملکرد میتوکندری را مختل و آزادسازی سیتوکروم C را در سیتوپلاسم تسهیل می‌کند. این تغییرات جداسازی رشته اکتین مرتبط با آبشار کاسپاز را فعال و احتمالاً پوشش هسته‌ای را با کاهش لامین B1<sup>3</sup> (LMNB) برای کاهش فیبروز قلبی، نفوذپذیر می‌کند (۲۹). همچنین مشخص شده فعال شدن سیستم رنین آنژیوتانسین<sup>4</sup> (RAS) یک عامل پاتولوژیک ضروری برای فیبروز قلبی است. آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) می‌تواند تولید آنژیوتانسین II<sup>5</sup> (Ang II) را افزایش دهد. Ang II به گیرنده آنژیوتانسین نوع ۱ و ۲ (AT1R و AT2R) متصل می‌شود که فسفوریلاسیون Smad2/3 را با افزایش سنتز TGF-β و فعال‌سازی مستقیم تنظیم می‌کند که می‌تواند منجر به فیبروز قلبی شود. مشخص شده ورزش می‌تواند آنتاگونیست Ang II را برای مهار فیبروز قلبی فعال کند و سنتز TGF-β را کاهش دهد (۶۲). از طرف دیگر تحقیقات نشان دادند که ورزش می‌تواند مسیر AKT, PI3K, IGF1 را فعال کند که می‌تواند پروتئین و بیان ژن CEBPβ کاهش دهد که در نهایت منجر به کاهش فیبروز در بافت قلب می‌شود (۶۳).

نتایج پژوهش حاضر در مورد تاثیر عصاره زالزالک بر میزان فیبروز با تحقیق حمزه و همکاران (۲۰۲۰) و تحقیق رازینوال و همکاران (۲۰۱۸) همسو بود (۳۶، ۶۴). اما با تحقیق هووانگ و همکاران (۲۰۰۸) همسو نبود. علت تفاوت نتایج حاضر با تحقیق هووانگ و همکاران ممکن است به خاطر نوع آزمودنی، دوز مصرفی و مدت استفاده از عصاره زالزالک باشد. آنها در تحقیق خود بر روی موش اسپراگ داوولی آزمایش کردند و مقدار ۱۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره زالزالک در روز به مدت یک ماه به موش خوراندند (۶۵).

در همین رابطه تحقیقات نشان دادند که زالزالک می‌تواند با کاهش در پروتئین و بیان ژن فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGF-β) از روند ایجاد فیبروز جلوگیری کند. مشخص شده که افزایش این فاکتور با ایجاد فیبروز در ارتباط است. علاوه بر این، تجمع بیش از حد ROS عامل اصلی التهاب است. ROS بیش از حد از طریق واسطه‌های CCl4، ممکن است به عنوان پیام‌رسان سیگنال به NF-kB عمل کند که در نهایت منجر به افزایش تولید سیتوکین، از جمله COX-2، IL-6، و TNFα و التهاب می‌شود که این فرایند می‌تواند منجر به فیبروز شود. همانطور که در بالا اشاره شد که زالزالک می‌تواند بر سیستم آنتی‌اکسیدانی و التهابی تاثیرگذار باشد و اثر مثبتی بر کاهش فیبروز داشته باشد (۳۶). همچنین می‌تواند فعالیت کاسپاز ۳ کاهش دهد و بیان مهار کننده‌های متالوپروتئینازها افزایش را دهد. تحقیقات نشان دادند که کاسپاز ۳ و متالوپروتئینازها در شروع فرایند فیبروز و آپوپتوز نقش دارد (۶۶، ۶۷). در ادامه در ارتباط با نتایج اثر تمرین ورزشی و عصاره زالزالک بر کاهش میزان فیبروز در مطالعه حاضر، باید گفت که هر کدام از تمرین ورزشی و عصاره زالزالک توانسته که اثر کاهشی بر میزان فیبروز

1. Methyltransferase1
2. Acyl-CoA Dehydrogenase Very Long Chain
3. Acyl-CoA Dehydrogenase Very Long Chain
4. Renin-Angiotensin System
5. Angiotensin II
6. Angiotensin type-1/2 Receptor

داشته باشد. مکانسیم احتمالی تاثیر هر دوی تمرین و زالزالک بر کاهش فیبروز در بالا توضیح داده شد که ممکن است کاهش بیشتر فیبروز در گروه تمرین و عصاره بخاطر اثر هم‌افزایی تمرین و عصاره زالزالک باشند. نتایج نشان داد که مکمل زالزالک و تمرین HIIT منجر به کاهش در میزان فیبروز در بافت قلب رت سالمند می‌شود. علاوه بر این، سطح بیان نشانگرهای التهابی از جمله  $IL1\beta$  و  $TNF\alpha$  نیز سرکوب شد. همچنین مشخص شد که تمرین ورزشی همراه با مکمل زالزالک اثرات تعدیل کننده بارزتری را در رت‌های مسن ایجاد می‌کند.

### پیام مقاله

نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین HIIT و عصاره زالزالک به عنوان یک روش پیشگیرانه منجر به کاهش سطوح فاکتورهای پیش التهابی (سطح  $TNF\alpha$  و  $IL1\beta$ ) در بافت قلب رت‌های سالمند شده و اثر بالقوه‌ای در کاهش میزان فیبروز قلبی در موش‌های مسن دارد. در صورت تکرار اثرات مثبت یافته‌های پژوهش حاضر در آزمودنی‌های انسانی، تمرین HIIT و عصاره زالزالک ممکن است دو مداخله غیردارویی برای کاهش عوارض پیری باشند.

### ملاحظات اخلاقی

#### انطباق با دستورالعمل‌های اخلاقی تحقیق

پروتکل مطالعه حیوانات مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه اصفهان قرار گرفت (کد اخلاق: IR. UI. ۱۴۰۲، ۰۵۹).

#### منابع مالی

این مطالعه هیچ بودجه‌ای از سازمان‌های دولتی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

#### مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش تمامی بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

#### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه دوره دکتری حرفه‌ای فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه اصفهان استخراج شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از کارکنان محترم مجموعه آزمایشگاهی تحقیقاتی آوین بنیان ژن و همچنین دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه اصفهان که ما را در انجام و ارتقاء کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام کنند.

### Reference

1. Kim Y, Triolo M, Hood DA. Impact of aging and exercise on mitochondrial quality control in skeletal muscle. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017;2017.
2. Seo DY, Lee SR, Kim N, Ko KS, Rhee BD, Han J. Age-related changes in skeletal muscle mitochondria: the role of exercise. *Integrative medicine research*. 2016;5(3):182-6.
3. Medzikovic L, Aryan L, Eghbali M. Connecting sex differences, estrogen signaling, and microRNAs in cardiac fibrosis. *Journal of Molecular Medicine*. 2019;97:1385-98.
4. Cancemi P, Aiello A, Accardi G, Caldarella R, Candore G, Caruso C, et al. The role of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in ageing and longevity: focus on sicilian long-living individuals (LLIs). *Mediators of Inflammation*. 2020;2020.



5. Horn MA, Trafford AW. Aging and the cardiac collagen matrix: Novel mediators of fibrotic remodelling. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2016;93:175-85.
6. Shih Y-C, Chen C-L, Zhang Y, Mellor RL, Kanter EM, Fang Y, et al. Endoplasmic reticulum protein TXNDC5 augments myocardial fibrosis by facilitating extracellular matrix protein folding and redox-sensitive cardiac fibroblast activation. *Circulation research*. 2018;122(8):1052-68.
7. Travers JG, Kamal FA, Robbins J, Yutzey KE, Blaxall BC. Cardiac fibrosis :the fibroblast awakens. *Circulation research*. 2016;118(6):1021-40.
8. Park S, Ranjbarvaziri S, Zhao P, Ardehali R. Cardiac fibrosis is associated with decreased circulating levels of full-length CILP in heart failure. *Basic to Translational Science*. 202۰;۴۳-۴۳۲:(۵)۵;-
9. Mack M. Inflammation and fibrosis. *Matrix Biology*. 2018;68:106-21.
10. Kurose H. Cardiac fibrosis and fibroblasts. *Cells*. 2021;10(7):1716.
11. Kurose H, Mangmool S. Myofibroblasts and inflammatory cells as players of cardiac fibrosis. *Archives of pharmacal research*. 2016;39:1100-13.
12. Nguyen MN, Kiriazis H, Gao XM, Du XJ. Cardiac fibrosis and arrhythmogenesis. *Comprehensive Physiology*. 2011;7(3):1009-49.
13. Pérez LM, Pareja Galeano H, Sanchis Gomar F, Emanuele E, Lucia A, Gálvez BG. 'Adipaging': ageing and obesity share biological hallmarks related to a dysfunctional adipose tissue. *The Journal of physiology*. 2016;594(12):3187-207.
14. Fiordelisi A, Iaccarino G, Morisco C, Coscioni E, Sorriento D. NFκB is a key player in the crosstalk between inflammation and cardiovascular diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(7):1599.
15. García-García VA, Alameda JP, Page A, Casanova ML. Role of NF-κB in ageing and age-related diseases: Lessons from genetically modified mouse models. *Cells*. 2021;10(8):1906.
16. Kanigur Sultuybek G, Soydas T, Yennis G. NF κB as the mediator of metformin's effect on ageing and ageing related diseases. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2019;46(5):413-22.
17. Zhang T, Ma C, Zhang Z, Zhang H, Hu H. NF κB signaling in inflammation and cancer. *MedComm*. 2021;2(4):618-53.
18. Jiang W, Xiong Y, Li X, Yang Y. Cardiac fibrosis: cellular effectors, molecular pathways, and exosomal roles. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 202۰;۷:۱۵۲۵۸;۱
19. Lavie CJ, Ozemek C, Carbone S, Katzmarzyk PT, Blair SN. Sedentary behavior, exercise, and cardiovascular health. *Circulation research*. 2019;124(5):799-815.
20. Kyselovič J, Leddy JJ. Cardiac fibrosis: the beneficial effects of exercise in cardiac fibrosis. *Exercise for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment: From Molecular to Clinical, Part 1*. 2017:257-68.
21. Shortreed SM, Peeters A, Forbes AB. Estimating the effect of long-term physical activity on cardiovascular disease and mortality: evidence from the Framingham Heart Study. *Heart*. 2013;99(9):649-54.
22. Cassidy S, Thoma C, Hallsworth K, Parikh J, Hollingsworth KG, Taylor R, et al. High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2016;59:56-66.
23. Montero D, Diaz-Cañestro C, Lundby C. Endurance Training and V̇O<sub>2</sub>max: Role of Maximal Cardiac Output and Oxygen Extraction. *Medicine and science in sports and exercise*. 2015;47(10):2024-33.
24. Palacios Le Blé G, Pedrero Chamizo R, Palacios Gil Antuñano N, Maroto Sanchez B, Aznar S, Gonzalez Gross MM. Biomarkers of physical activity and exercise. *Nutricion hospitalaria*. 2015;31(Supl. 3):237-44.
25. Li Y, Cai M, Cao L, Qin X, Zheng T, Xu X, et al. Endurance exercise accelerates myocardial tissue oxygenation recovery and reduces ischemia reperfusion injury in mice. *PLoS One*. 2014;9(12):e114205.
26. Garza MA, Wason EA, Zhang JQ. Cardiac remodeling and physical training post myocardial infarction. *World journal of cardiology*. 2015;7(2):52.
27. Stöggl TL, Björklund G. High intensity interval training leads to greater improvements in acute heart rate recovery and anaerobic power as high volume low intensity training. *Frontiers in physiology*. 2017;8:562.

28. Weston KS, Wisløff U, Coombes JS. High-intensity interval training in patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: a systematic review and meta-analysis. *British journal of sports medicine*. 2014;۳۴-۱۲۲۷:(۱۶)۴۸
29. Hsu C-C, Wang J-S, Shyu Y-C, Fu T-C, Juan Y-H, Yuan S-S, et al. Hypermethylation of ACADVL is involved in the high-intensity interval training-associated reduction of cardiac fibrosis in heart failure patients. *Journal of Translational Medicine*. 2023;21(1):1-15.
30. Hill J, Mills C, Li Q, Smith JS. Prevalence of traditional, complementary, and alternative medicine use by cancer patients in low income and lower-middle income countries. *Global public health*. 2019;14(3):418-30.
31. Ekor M .The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in pharmacology*. 2014;4:177.
32. Paknia S, Sharif MAS, Heidarianpour A. The Effect of Resistance Training Along with Hawthorn Supplementation on Some Indices of Oxidative Stress in Alzheimer's Male Rats. 2022.
33. Papaconstantinou J. The role of signaling pathways of inflammation and oxidative stress in development of senescence and aging phenotypes in cardiovascular disease. *Cells*. 2۰۱۳۳:(۱۱)۸;۰۱۹
34. Behrooznia F, Eidy A, Ghaneialvar H. Herbal plants for heart diseases. *Plant Biotechnol Persa*. 2019;1(1):39-41.
35. Zhang J, Chai X, Zhao F, Hou G, Meng Q. Food applications and potential health benefits of hawthorn. *Foods*. 2022;11(18):۲۸۶۱:
36. Hamza AA, Lashin FM, Gamel M, Hassanin SO, Abdalla Y, Amin A. Hawthorn herbal preparation from *Crataegus oxyacantha attenuates in vivo carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis via modulating oxidative stress and inflammation*. *Antioxidants*. ۱۱۷۳:(۱۲)۹;۲۰۲۰
37. Wu M, Liu L, Xing Y, Yang S, Li H, Cao Y. Roles and mechanisms of hawthorn and its extracts on atherosclerosis: a review. *Frontiers in pharmacology*. 2020;11:118.
38. Kim E, Jang E, Lee J-H. Potential roles and key mechanisms of hawthorn extract against various liver diseases. *Nutrients*. 2022;14(4):867.
39. و مقایسه MS در بیماران Dبررسی سطح سرمی ۲۵ هیدروکسی ویتامین Et al. سعید شب، حسین پد، نازنین م، الهام نر، زهرا م، مصباح ش، آن با گروه شاهد.
40. Darband SG, Sadighparvar S, Yousefi B ,Kaviani M, Mobaraki K, Majidinia M. Combination of exercise training and L-arginine reverses aging process through suppression of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in the rat heart. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2020;472(2):۷۸-۱۶۹:
41. Sun L, Li F-H, Li T, Min Z, Yang L-D, Gao H-E, et al. Effects of high-intensity interval training on adipose tissue lipolysis, inflammation, and metabolomics in aged rats. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2020;472:245-58.
42. Constans A, Pin-Barre C, Molinari F, Temprado J-J, Brioche T, Pellegrino C, et al. High-intensity interval training is superior to moderate intensity training on aerobic capacity in rats: Impact on hippocampal plasticity markers. *Behavioural Brain Research*. ۳۹۸:۱۱۲۹۷۷;۲۰۲۱ .
43. Ranjbar K, Zarrinkalam E, Salehi I, Komaki A, Fayazi B. Cardioprotective effect of resistance training and *Crataegus oxyacantha* extract on ischemia reperfusion-induced oxidative stress in diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. ۶۰-۱۰۰:۴۵۵;۲۰۱۸ .
44. Schleicher E, Wieland O. Evaluation of the Bradford method for protein determination in body fluids. *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry Zeitschrift fur klinische Chemie und klinische Biochemie*. 1978;16(9):533-4.
45. Liao P-H, Hsieh DJ-Y, Kuo C-H, Day C-H, Shen C-Y, Lai C-H, et al. Moderate exercise training attenuates aging-induced cardiac inflammation, hypertrophy and fibrosis injuries of rat hearts. *Oncotarget*. 2015;6(34):35383.

46. Khademi Y, Azarbayjani M, Hosseini H. Simultaneous effect of high-intensity interval training (HIIT) and consumption of flaxseed on serum levels of TNF- $\alpha$  and IL1 $\beta$  in rats. *Internal Medicine Today*. 2017;23(4):257-63.
47. Hadiono M, Kushartanti BW, editors. High intensity interval training (HIIT) and moderate intensity training (MIT) against TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in rats. 2nd International Conference on Sports Sciences and Health 2018 (2nd ICSSH 2018); 2019: Atlantis Press.
48. Khalafi M, Symonds ME. The impact of high intensity interval training on inflammatory markers in metabolic disorders: A meta analysis. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2020;30(11):2020-36.
49. Hooshmand Moghadam B, Golestani F, Bagheri R, Cheraghloo N, Eskandari M, Wong A, et al. The effects of high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on inflammatory markers, body composition, and physical fitness in overweight/obese survivors of breast cancer: A randomized controlled clinical trial. *Cancers*. 2021;13(17):۴۳۸۶
50. Ahmadizad S, Avansar AS, Ebrahim K, Avandi M, Ghasemikaram M. The effects of short-term high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on plasma levels of nesfatin-1 and inflammatory markers. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2015;21(3):165-73.
51. Shahouzehi B, Nasri H, Aminizadeh S, Masoumi-Ardakani Y. The Effect of High-intensity Interval Training and L-carnitine on the Expression of Some Pro-inflammatory Genes in the Liver and Cardiac Tissues of Rats. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*. 2021;28(1):56-68.
52. Lesniewski LA, Durrant JR, Connell ML, Henson GD, Black AD, Donato AJ, et al. Aerobic exercise reverses arterial inflammation with aging in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2011;301(3):H1025-H32.
53. Jakus T, Jurdana M, Žiberna L, Pražnikar ZJ. Acute moderate-intensity exercise increases total antioxidant capacity and anti-inflammatory responses in competitive cyclists: The role of adiponectin. *European Journal of Inflammation*. 2021;19:2058739221998890.
54. Saghebjo M, Sadeghi-Tabas S, Saffari I, Ghane A, Dimauro I. Sex Differences in antiaging response to short- and long-term high-intensity interval exercise in rat cardiac muscle: Telomerase activity, total antioxidant/oxidant status. *Chinese Journal of Physiology*. 2019;62(6):261.
55. Liu F, Zhang X, Ji Y. Total flavonoid extract from hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) improves inflammatory cytokines-evoked epithelial barrier deficit. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2020;26:e920170-1.
56. Li C, Wang M-H. Anti-inflammatory effect of the water fraction from hawthorn fruit on LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Nutrition research and practice*. 2011;5(2):101-6.
57. Kim S-J, Um J-Y, Hong S-H, Lee J-Y. Anti-inflammatory activity of hyperoside through the suppression of nuclear factor- $\kappa$ B activation in mouse peritoneal macrophages. *The American journal of Chinese medicine*. 2011;39(01):171-8.
58. Peng Y, Lou L-L, Liu S-F, Zhou L, Huang X-X, Song S-J. Antioxidant and anti-inflammatory neolignans from the seeds of hawthorn. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2016;26(22):5501-6.
59. Liu S, Yu J, Fu M, Wang X, Chang X. Regulatory effects of hawthorn polyphenols on hyperglycemic, inflammatory, insulin resistance responses, and alleviation of aortic injury in type 2 diabetic rats. *Food Research International*. 2021;142:110239.
60. Yazdani F, Shahidi F, Karimi P. The effect of 8 weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on cardiac angiogenesis factor in diabetic male rats. *Journal of physiology and biochemistry*. 2020;76:291-9.
61. Holloway TM, Bloemberg D, da Silva ML, Simpson JA, Quadrilatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. *PloS one*. 2015;10(3):e0121138.
62. Wang K, Deng Y, Xiao H. Exercise and Cardiac Fibrosis. *Current Opinion in Physiology*. 2023:100630.

63. Gielen S, Schuler G, Adams V. Cardiovascular effects of exercise training: molecular mechanisms. *Circulation*. 2010;122(12):1221-38.
64. Rathinavel A, Sankar J, Mohammed Sadullah SS, Niranjali Devaraj S. Oligomeric proanthocyanidins protect myocardium by mitigating left ventricular remodeling in isoproterenol induced postmyocardial infarction. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2018;32(1):51-9.
65. Hwang HS, Bleske BE, Ghannam MM, Converso K, Russell MW, Hunter JC, et al. Effects of hawthorn on cardiac remodeling and left ventricular dysfunction after 1 month of pressure overload-induced cardiac hypertrophy in rats. *Cardiovascular drugs and therapy*. 2008;22:19-28.
66. صادقیان، زاده ک، کندی م، یحیی، شانجانی م، صداقتی. تأثیر تمرین هوازی به همراه مصرف کورکومین بر بیان ژن شاخص‌های آپوپتوزیباقت کبد موش‌های سرطانی القایی پستان در فاز درمان با دوکسوروبیسین: یک مطالعه تجربی. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان*. ۲۰۲۲؛ ۲۱(۴): ۴۳۳-۴۸.
67. Sygitowicz G, Maciejak-Jastrzębska A, Sitkiewicz D. A review of the molecular mechanisms underlying cardiac fibrosis and atrial fibrillation. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(19):4430.

