

Original Article

A Survey of interval training on the expression of ICAM, VCAM and galectin-3 proteins in the heart tissue of asthmatic rats

Masoumeh Nobahar¹, Marefat Siahkoohian^{2*}, Shadmehr Mirdar³, Lily Tapak⁴¹PhD Student in Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran²Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran³Department of Sports Physiology, Athletic Performance and Health Research Center, Faculty of Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran⁴Department of Vital Statistics, Department of Biostatistics, Faculty of Health, Non-Communicable Diseases Modeling Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

ARTICLE INFO:

Article History:

Received: 4 Jan 2020

Accepted: 4 Feb 2020

ePublished: 15 Sep 2021

Keywords:

Galectin 3; VCAM; ICAM

Abstract

Background. Asthma is a heterogeneous disease whose inflammatory processes are involved in the pathophysiology of atherosclerosis and endothelial dysfunction, and increases the prevalence of cardiovascular disease. This study was designed to investigate the effect of 8 weeks of interval training on some of the effective factors in atherosclerosis in heart tissue of asthmatic rats.

Methods. In this experimental study, 15 rats were randomly divided into three groups of sham, asthma, and asthmatic-interval training. The model of asthma was induced by intraperitoneal injection of 1 ml ovalbumin for 2 weeks, and then asthmatic-interval training rats for 8 weeks participated in interval training. During the training protocol period, twice-weekly intraperitoneal injections of ovalbumin 1 ml, and were placed into a glass container exposed to 5% ovalbumin spray. 48 hours after the last training session, the rats were anesthetized and their hearts were ejected. The levels of proteins expression of ICAM, VCAM, and galectin-3 were measured by immunohistochemistry, and western blotting, respectively. Data were analyzed using one-way ANOVA in SPSS at the significant level $\alpha=0.05$.

Results. The results of this study showed that the expression of ICAM ($P=0.001$), VCAM ($P=0.001$), and galectin-3 ($P=0.001$) was significantly increased in heart tissue of asthma rats. Whereas, interval training decreased the expression of ICAM ($P=0.001$), VCAM ($P=0.001$), and galectin-3 ($P=0.01$) proteins in the asthmatic-interval training group compared to the asthma group.

Conclusion. It seems that, interval training is effective in preventing atherosclerosis in patients with asthma.

How to cite this article: Nobahar M, Siahkoohian M, Mirdar Sh, Tapak L. [A Survey of interval training on the expression of ICAM, VCAM and galectin-3 proteins in the heart tissue of asthmatic rats]. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2021;43(4):368-378 Persian.

*Corresponding author; E-mail: m_siahkohian@uma.ac.ir

© 2021 The Author. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

Extended Abstract

Background

Asthma is a heterogeneous disease whose inflammatory processes are involved in the pathophysiology of atherosclerosis and endothelial dysfunction, and increases the prevalence of cardiovascular disease. Numerous studies have shown that inflammatory processes in asthma pathology play an important role in endothelial dysfunction and atherosclerotic plaque. Increased expression and activity of CAMs indicate inflammation, endothelial dysfunction and atherosclerosis. On the other hand, Galectin-3 is one of the inflammatory-enhancing proteins in the progression of atherosclerotic plaque through macrophage activation and monocyte uptake, which significantly increases the risk of death from abnormalities. It has been recognized as a new biomarker for cardiovascular disorders, however the effects of aerobic training on these markers have not been identified. Therefore, the purpose of the present study was to investigate the effect of 8 weeks of interval training on some of the effective factors in atherosclerosis in heart tissue of asthmatic rats.

Methods

15 male Wistar rats were purchased at the age of five weeks from the Pasteur Institute of Amol Institute and transferred to the laboratory of the Department of Exercise Physiology of Mazandaran University. Then, they were randomly divided into 3 groups based on weight groups and placed in groups of 5 in each polycarbonate shelf: control,

interval and saline groups. Animals in the asthmatic groups control and interval received (1 ml) of Ovalbumin intraperitoneal injection after exercise and exposed to Ovalbumin Challenge three times per week for 20 minutes. Interval group (3 times per week, 60-80% MCT, 30 Minutes). 48 hours after the last training session, the rats were anesthetized and their hearts were ejected. The levels of proteins expression of ICAM, VCAM, and galectin-3 were measured by immunohistochemistry, and western blotting, respectively. Data were analyzed using one-way ANOVA in SPSS at the significant level $\alpha=0.05$.

Results

Results indicated that the heart ICAM ($P=0.001$), VCAM ($P=0.001$) and Galectin-3 levels asthma rats significant increase compared to the saline groups. Whereas, interval training decreased the expression of ICAM ($P=0.001$), VCAM ($P=0.001$), and galectin-3 ($P=0.01$) proteins in the asthmatic-interval training group compared to the asthma group. On the other hand, the IgE levels training group increase compared to the saline group ($P=0/0001$).

Conclusion

interval training is widely recognized as anti-inflammatory strategies in patients with atherosclerosis. Decreased levels of measured CAMs (- 22%) in the heart tissue of patients with asthma after exercise indicate that increased blood flow to the heart tissue and the inhibitory effects of the production pathway of these proteins as well as shear pressure may reduce its expression. Exercise

can reduce inflammatory markers by boosting antioxidant defenses and reducing free radicals. High intensity interval training due to decreased galectin 3 levels and increased ejection fraction can improve cardiac function in cardiovascular patients. The reduction of effective factors in the process of atherosclerosis in the heart tissue

of the exercise group in the present study can be attributed to the direct effect of intermittent exercise on reducing the increased levels of ICAM, VCAM and galectin-3 proteins. It seems that, interval training is effective in preventing atherosclerosis in patients with asthma.

مقاله پژوهشی

پایش یک دوره تمرین تناوبی بر بیان پروتئین‌های VCAM، ICAM و گالکتین-۳ در بافت قلب موش‌های مبتلا به آسم

معصومه نوبهار^{۱*}، معرفت سیاهکوهیان^{۲*}، شادمهر میردار^{۳*}، لیلی تاپاک^۴

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
^۳ گروه فیزیولوژی ورزشی، قطب علمی پایش سلامت ورزشی و پویش قهرمانی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
^۴ گروه آمار حیاتی، گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات مدل‌سازی بیماری‌های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۴
پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵
انتشار برخط: ۱۴۰۰/۶/۲۴

کلید واژه‌ها:

گالکتین-۳؛ VCAM؛ ICAM

چکیده

زمینه. آسم یک بیماری ناهمگن است که فرآیندهای التهابی این بیماری در پاتوفیزیولوژی آترواسکلروز و اختلال عملکرد اندوتلیال نقش دارند و سبب افزایش شیوع بیماری قلبی عروقی می‌شوند. این مطالعه با هدف بررسی تاثیر ۸ هفته تمرین تناوبی بر برخی از عوامل موثر در روند آترواسکلروز در قلب موش‌های آسمی طراحی گردید.
روش کار. در این مطالعه تجربی ۱۵ سر موش صحرایی به‌طور تصادفی به ۳ گروه شم، آسم، آسم-تمرین تناوبی تقسیم شدند. مدل آسم با تزریق درون صفاقی یک میلی‌لیتر اوالبومین به مدت ۲ هفته ایجاد شد و سپس موش‌های گروه آسم-تمرین تناوبی طی ۸ هفته به اجرای تمرین پرداختند. در طول دوره پروتکل تمرینی، تزریق درون صفاقی اوالبومین دوبار در هفته به میزان یک میلی‌لیتر و قرار دادن آن‌ها در داخل محفظه‌ای شیشه‌ای در معرض افشانه اوالبومین ۵ درصد انجام گرفت. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها بیهوش شده و قلب آن‌ها خارج شد. میزان بیان پروتئین‌های VCAM، ICAM و پروتئین گالکتین-۳ به ترتیب از روش‌های ایمنوهیستوشیمی و وسترن‌بلات اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه در محیط SPSS با سطح معنی‌داری $\alpha=0/05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته. میزان بیان ICAM ($P=0/001$)، VCAM ($P=0/001$) و گالکتین-۳ ($P=0/001$) در قلب رت‌های آسمی به طور معنی‌داری افزایش یافت؛ در حالی که تمرین تناوبی توانست بیان پروتئین‌های ICAM ($P=0/001$)، VCAM ($P=0/001$) و گالکتین-۳ ($P=0/001$) را در گروه آسم-تمرین تناوبی نسبت به گروه آسم کاهش دهد.
نتیجه‌گیری. به نظر می‌رسد که تمرین تناوبی برای پیشگیری از آترواسکلروز در بیماران مبتلا به آسم موثر است.

مقدمه

پاتوفیزیولوژی آسم و بیماری‌های قلبی دخالت دارند. در سال‌های اخیر، چند مطالعه‌ی هم‌گروهی بزرگ نشان داد که افراد مبتلا به آسم میزان بروز بیماری قلبی عروقی بالاتر و خطر مرگ بیشتری نسبت به افراد غیر آسمی دارند.^۱ آترواسکلروز شایع‌ترین نوع بیماری قلبی عروقی است که علت اصلی مرگ و میر ناشی از بیماری‌های کرونری قلب به شمار می‌رود. شواهد نشان می‌دهد که التهاب مزمن ممکن است نقش حیاتی در توسعه آترواسکلروز داشته باشد، که شناخت نقش عوامل التهابی خاص و مسیرهای مرتبط با

بیماری آسم، یکی از مشکلات بهداشت جهانی است که در سراسر جهان رو به افزایش است و افراد را در هر سنی تحت تأثیر قرار می‌دهد. از ویژگی‌های اصلی آسم می‌توان به تغییر ساختار و عملکرد راه‌های هوایی که منجر به تحریک‌پذیری غیر اختصاصی برونش و انسداد مجرای هوایی می‌شود، اشاره کرد. آسم معمولاً با التهاب مزمن مجاری هوایی مشخص می‌شود و با بیماری‌های التهابی مزمن سیستمیک فراتر از مجاری هوایی همراه می‌شود. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که فرآیندهای التهابی، احتمالاً در

* نویسنده مسؤول: ایمیل: m_siahkohan@uma.ac.ir

حق تالیف برای مولفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد

نکات کاربردی

فعالیت جسمانی از نیازهای اساسی زندگی روزمره انسان می‌باشد. متأسفانه در کشور ما، بیماران مبتلا به آسم به علت احتمال ایجاد آسم ناشی از ورزش و ترس از ایجاد تنگی نفس در طی فعالیت ورزشی، دچار محدودیت در این گونه فعالیت‌ها شده و نگرشی منفی نسبت به ورزش در مبتلایان به آسم وجود دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که افراد مبتلا به آسم می‌توانند با انجام این نوع فعالیت علاوه بر بهبود سبک زندگی، سطح عوامل خطرزای قلبی را که به دنبال التهاب تغییر می‌یابند را تعدیل کنند.

پژوهش‌های انجام شده نشان دادند، افرادی که سبک زندگی فعالی دارند سطوح التهاب سیستمیک و سلامت عروق بهتری نسبت به افراد کم‌تحرک دارند، از این رو خطر مرگ و میر در آن‌ها پایین‌تر است.^{۱۴} بر اساس مطالعه Silva و همکاران، تمرین هوازی موجب کاهش معنادار سطح ICAM و VCAM بافت ریه موش‌های آسمی شد.^{۱۵} حجازی و همکاران در پژوهشی با بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی بر میزان سطح سرم ICAM زنان میانسال گزارش کردند که تمرینات ورزشی موجب کاهش نشانگرهای زیستی التهابی از قبیل ICAM می‌شود.^{۱۶} اگرچه فعالیت ورزشی یکی از عوامل اصلی پیش‌گیری از بیماری‌های قلبی و عروقی است، با وجود این، ارتباط بین ورزش و تغییرات سطوح گالکتین-۳ هنوز ناشناخته است. Hättasch و همکاران در پژوهشی دریافتند که دوی استقامت به مسافت ۳۰ کیلومتر در مردان سالم غیر حرفه‌ای سبب افزایش گالکتین ۳ می‌شود.^{۱۷} در مقابل نتایج مطالعه Billebeau و همکاران نشان داد که ۴۰ جلسه تمرین استقامتی موجب کاهش میزان گالکتین ۳ پلاسمایی در بیماران قلبی می‌شود.^{۱۸} با وجود این که دانش و اطلاعات گسترده‌ای درباره رفتار و اهمیت بالینی نشانگرهای زیستی در بیماران دارای اختلالات قلبی در شرایط ورزشی جمع‌آوری شده است، اما دانش اندکی در زمینه بیماری‌های قلبی مرتبط با بیماران آسمی وجود دارد. از این رو ارتباط بین تغییرات شاخص‌های آتروسکلروزی با ورزش در بیماران آسمی مشخص نیست. بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین تناوبی بر بیان پروتئین‌های ICAM، VCAM و گالکتین ۳ در قلب رت‌های آسمی است.

آتروسکلروز می‌تواند درمان‌های موثر و دستورالعمل‌هایی برای کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی را فراهم کند.^۲ سازوکارهای پاتولوژی مبتنی بر تغییر شریانی آتروسکلروز مرتبط با آسم هنوز مشخص نیست. برخی مطالعات در مورد پدیده‌هایی مانند التهاب و استرس اکسیداتیو به عنوان مکانیسم‌های بالقوه که منجر به تسریع آتروسکلروز در آسم می‌شوند، نام برده‌اند.^۳ یکی از حساس‌ترین نشانگرهای تشکیل پلاک آتروسکلروزی در دیواره اندوتلیال عروق، مولکول‌های چسبان سلولی و عروقی ICAM و VCAM است. افزایش بیان و فعالیت CAM‌ها نشان‌دهنده التهاب، اختلال عملکرد اندوتلیال و آتروسکلروز است.^۲ هر دو مولکول چسبان اندوتلیال از خانواده ایمونوگلوبولین هستند که در چسبندگی لکوسیت‌ها در سلول‌های عروقی نقش دارند، و در پیش‌بینی بیماری‌های قلبی عروقی از حساسیت و دقت بالایی برخوردار هستند.^۴ بررسی‌ها نشان می‌دهد با افزایش مولکول‌های ICAM و VCAM، مونوسیت‌ها به درون اندوتلیال عروق راه می‌یابند و در نتیجه نفوذپذیری و فعال‌سازی پلاکت‌ها افزایش می‌یابد. با افزایش فرایندهای یاد شده و مهاجرت همزمان سلول‌های عضلانی صاف جدار عروق، روند رسوب بافت فیبروزی در ناحیه آسیب دیده افزایش می‌یابد و صفحات زرد پلاک آترمی توسعه می‌یابد.^۵ از سوی دیگر گالکتین-۳ یکی از پروتئین‌های تقویت‌کننده التهاب در پیشرفت پلاک آتروسکلروز از طریق فعال‌سازی ماکروفاژ و جذب مونوسیت است.^۶ که به‌طور معنی‌داری با خطر مرگ در اثر ناهنجاری‌های حاد و مزمن قلبی مرتبط است.^۷ مقایسه بین افراد سالم و بیمار مبتلا به نارسایی قلبی نشان داده است که سطح گالکتین-۳ به طور چشم‌گیری در بیماران قلبی افزایش می‌یابد، که این افزایش در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی اهمیت ویژه‌ای دارد.^۸ امروزه نشان داده شده است که بهبود آمادگی جسمانی یکی از رویکردهای غیردارویی برای بهبود پیش‌گیری ایجاد التهاب از طریق سازوکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی است،^۹ به‌طوری‌که افزایش سطح آمادگی جسمانی در بیماران آسمی به دلیل افزایش بهبود عملکرد ریوی^{۱۰}، ارتقای شیوه زندگی و کنترل آسم^{۱۱} از اهمیت بالایی برخوردار است. برخی مطالعات نشان داد تمرینات بدنی بر افزایش نشانگرهای آسم، تأثیر ندارد، اما موجب بهبود آمادگی قلبی عروقی این دسته از افراد می‌شود.^{۱۲، ۱۱} مطالعه‌ای با بررسی تأثیر فعالیت بدنی بر بیماری آسم دریافتند که فعالیت بدنی موجب بهبود آمادگی قلبی عروقی می‌شود، در حالی که عملکرد ریه بدون تغییر می‌ماند.^{۱۳، ۱۱}

روش کار

پژوهش حاضر از نوع مطالعه تجربی، و با رویکرد بنیادی و کاربردی انجام شده است. رت‌های صحرایی ۵ هفته‌ای نر ویستار با وزن ۲۰۰-۱۵۰ گرم به عنوان نمونه پژوهش از مرکز نگهداری حیوانات مؤسسه انستیتو پاستور خریداری شده، و پس از انتقال نمونه‌ها به محیط آزمایشگاه، به مدت یک هفته جهت سازگاری با شرایط جدید، حیوانات در محیط استاندارد در اتاقی با چرخه ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی، دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد مطلوب با دسترسی آزادانه به آب و غذا (به صورت پنج تایی در قفس‌ها شفاف پلی کریستال) نگهداری شدند و آشناسازی با نحوه فعالیت حیوانات بر روی نوارگردان (۴ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر بر دقیقه و شیب صفر) اجرا شد. برای تحریک به دویدن و جلوگیری از اثر احتمالی شوک الکتریکی بر یافته‌های پژوهش در مرحله آشناسازی حیوانات با فعالیت روی نوارگردان به روش شرطی‌سازی با صدا آموزش داده شد تا از نزدیک شدن و استراحت در بخش انتهایی دستگاه خودداری کنند. پس از مراحل آشناسازی با محیط و نوارگردان، ۱۵ سر موش ویستار به‌طور مساوی در سه گروه شم (SH)، کنترل آسم (CA) و آسم-تمرین تناوبی (A+IT) تقسیم شدند. مراحل پژوهش حاضر بر اساس راهنمای شورای پژوهش ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت و تلاش بر این بود که هرگونه استرس غیرضروری به حیوانات حذف گردد.

القای آسم: برای القای آسم تجربی به موش‌های صحرایی گروه کنترل آسم و آسم-تمرین تناوبی، دو هفته محلول اووالبومین به‌صورت درون صفاقی تزریق شد؛ این عمل سه بار در هفته انجام گرفت. برای تهیه محلول به ازای هر یک گرم اووالبومین ۱۰۰ میلی‌گرم آلومینیوم و یک میلی‌لیتر سرم تزریقی برای هر رت استفاده شد.^{۱۹} محلول با استفاده از شیکر و اولتراسونیک ترکیب، و در ظرف شیشه‌ای در یخچال نگهداری شد. گروه‌های آسم در طول ۸ هفته پروتکل تمرینی پس از تمرین به مقدار یک میلی‌لیتر به صورت درون صفاقی محلول اووالبومین را دریافت می‌کردند. برای از بین بردن استرس ناشی از تزریق، گروه شم نیز به مقدار یک میلی‌لیتر سرم نرمال سالین به صورت درون صفاقی تزریق شد. در طول پروتکل تمرینی گروه‌های آسمی علاوه بر تزریق، ۲ بار در هفته در داخل محفظه‌ای شیشه‌ای در معرض افشانه اووالبومین ۵ درصد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. جهت تهیه

محلول افشانه از نسبت یک میلی‌گرم اووالبومین و یک میلی‌لیتر سرم نمکی استفاده شد.

پروتکل تمرین تناوبی: برنامه تمرینی اینتروال در طول ۸ هفته اجرا شد. پروتکل تمرینی ۳ بار در هفته و به صورت ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای انجام شد. به گونه‌ای که سرعت استراحت نصف سرعت دویدن بود و کل زمان تمرین روزانه برای هر موش ۳۰ دقیقه طول می‌کشید.^{۲۰، ۲۱} در اولین جلسه پروتکل تمرینی آزمون ظرفیت بیشینه (MCT) گرفته شد. به نحوی که آزمون با سرعت ۵ متر بر دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه ۵ متر بر دقیقه به شدت فعالیت اضافه شد. MCT، براساس وامانده شدن و توقف موش بر روی تسمه نوارگردان و برگشت به فضای بیرون از تسمه بدون شوک الکتریکی برای بیش از ۳ ثانیه تعیین شد. پس از تعیین MCT (در ابتدای پروتکل و پایان هفته چهارم)، پروتکل تمرین تناوبی به صورت دوره‌های ۴ هفته‌ای به صورت سینوسی اجرا شد. از نتایج تست‌ها برای محاسبه شدت تمرین برای هر موش در دوره‌های چهار هفته اول و دوم استفاده شد. به غیر از زمان فعالیت اصلی، ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن در نظر گرفته شد.

تشریح و بافت برداری: در پایان ۸ هفته تمرین تناوبی، موش‌ها با تزریق ۳ واحد محلول کتامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵-۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش و بافت قلب آن‌ها خارج شد و بلافاصله در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس تا انجام مطالعات مولکولی در یخچال با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

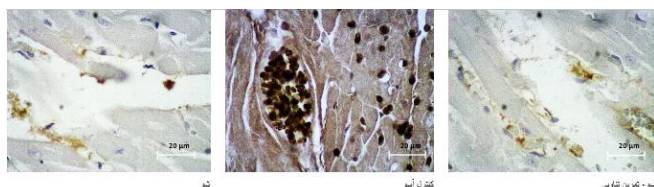
مطالعه ایمونوهیستوشیمی برای ارزیابی بیان پروتئین‌های ICAM و VCAM: میزان بیان پروتئین‌های ICAM (ab1۷۱۱۲۳) و VCAM (sc۵۳۵۴۸) به روش ایمونوهیستوشیمی برآورد شد. پس از ثبات بافتی در محلول بوئن به مدت ۴۸ ساعت، مراحل پاساژ بافتی ادامه یافت و نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شده و پس از آن با استفاده از میکروتوم دوار برش‌های ۵ میکرونی تهیه شد. برای حذف کردن پارافین از گزین (زایلن) و برای آب‌دهی از الکل اتیلیک با درجات نزولی استفاده شد. جهت رنگ‌آمیزی زمینه نیز از همتاکسیلین استفاده شد. سپس اسلایدها با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند.

سنجش بیان پروتئین گالکتین-۳ به روش وسترن بلات: میزان بیان پروتئین گالکتین-۳ با استفاده آنتی‌بادی (۷۶۲۴۵ ab) به روش وسترن بلات برآورد شد. روش وسترن بلات شامل دو بخش است. در مرحله ران کردن ژل، نمونه

پژوهش نشان داد که القای آسم سبب افزایش معنی‌دار بیان پروتئین ICAM در گروه کنترل آسم نسبت به گروه شم شد ($P=0/001$). به طوری که پس از هشت هفته اجرای تمرین تناوبی، کاهش معنی‌داری در سطح پروتئین ICAM در گروه آسم-تمرین تناوبی در مقایسه با گروه کنترل آسم مشاهده شد ($P=0/001$). همچنین سطح پروتئین ICAM در گروه شم از گروه آسم-تمرین تناوبی پایین‌تر بود و این سطح تفاوت از نظر آماری معنی‌داری بود ($P=0/001$). (شکل ۱، نمودار ۱).

نتایج بدست آمده برای پروتئین VCAM مشابه با تغییرات سطح پروتئین ICAM بود. در این پژوهش رت‌های گروه کنترل آسم افزایش قابل توجهی را در سطح پروتئین VCAM نسبت به گروه شم داشتند ($P=0/001$) و هشت هفته تمرین تناوبی توانست سطح این پروتئین را بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل آسم کاهش دهد ($P=0/001$). علاوه بر این تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شم و آسم-تمرین تناوبی در سطح پروتئین VCAM بود ($P=0/001$). (شکل ۲، نمودار ۱).

در نتایج بدست آمده مشاهده شد که میانگین بیان پروتئین‌های ICAM و VCAM در گروه‌های شم در یک محدوده بود و القای آسم سبب افزایش بیشتر پروتئین ICAM ($66/50$) نسبت به پروتئین VCAM ($59/07$) در گروه کنترل آسم شد و تمرین تناوبی تاثیر بیشتری بر کاهش ICAM ($34/55$) نسبت به VCAM ($38/17$) در گروه آسم-تمرین تناوبی داشت. تمرین تناوبی سبب کاهش سطح پروتئین گالکتین ۳ در بافت قلب رت‌های آسمی شد. نتایج بدست آمده برای پروتئین گالکتین ۳ نشان داد که القای آسم سبب افزایش سطح این پروتئین در گروه کنترل آسم نسبت به گروه شم شد ($P=0/001$) و انجام هشت هفته تمرین تناوبی سبب کاهش معنی‌داری این پروتئین نسبت به گروه کنترل آسم شد ($P=0/001$). همچنین، سطح پروتئین گالکتین ۳ بین گروه شم و آسم-تمرین تناوبی از تفاوت قابل توجهی برخوردار بود ($P=0/001$) (نمودار ۲).



شکل ۱: بررسی ایمنوهیستوشیمیایی شاخص پروتئینی ICAM در بافت قلب گروه‌های مورد پژوهش. بزرگنمایی شکل در مقیاس $\times 200$ صورت گرفته است. نقطه‌های پررنگ در شکل، واکنش مثبت سلول‌ها به آنتی‌بادی پروتئین ICAM را نشان می‌دهد.

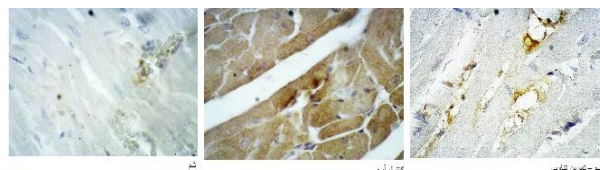
پروتئینی با بافر نمونه مخلوط و به مدت ۵-۱۰ دقیقه جوشانده و سپس بر روی ژل پلی آکریل آمید به مدت ۲-۳ ساعت در ولتاژ ۱۰۰ ران شد. پس از ران کردن، ژل برای مرحله انتقال آماده شد. در مرحله انتقال، ابتدا کاغذ نیترو سلولز را به اندازه مورد نیاز برش داده شد و به همراه پدهای دستگاه و اسفنج‌ها در داخل بافر ترانسفر قرار گرفت (برای بریدن کاغذ نیترو سلولز از یک اسکالپل تمیز استفاده و از تماس دست با کاغذ جلوگیری شد). سپس کاغذ نیترو سلولز را به همراه ژل و اسفنج‌ها و پدهای دستگاه به صورت ساندویچی سوار کرده و در داخل تانک قرار داده شد و به مدت ۱ ساعت در 35°C آمپر الکتروفورز قرار گرفت. پس از انتقال، کاغذ نیتروسلولز را با استفاده از بافر TBS به مدت ۵-۱۰ دقیقه شستشو دادیم. در این مرحله کاغذ نیترو سلولز را به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در بافر TBS (یا بلاکینگ) غوطه‌ور شد و به آرامی شیک دادیم. کاغذ نیتروسلولز را با استفاده از بافر TBS برا چندین بار شستشو و سپس به مدت ۱-۲ ساعت در دمای اتاق با آنتی بادی اولیه رقیق شده در بافر TBS انکوبه شد (رقت آنتی‌بادی $1/1000$). کاغذ نیتروسلولز را با استفاده از بافر TBS برا چندین بار شستشو دادیم. سپس کاغذ نیترو سلولز را به مدت ۱-۲ ساعت در دمای اتاق با آنتی بادی ثانویه رقیق شده در بافر TBS انکوبه (رقت آنتی بادی $1/3000$) و با استفاده از بافر TBS برا چندین بار شستشو شد. در مرحله بعد کاغذ نیتروسلولز با محلول سوبسترا (DAB) به مدت ۱-۲ ساعت در دمای اتاق انکوبه شد تا باند مورد نظر نمایان شود. در مرحله آخر پس از نمایان شدن باند می‌توان کاغذ را با آب مقطر شستشو داد.

روش‌های آماری: برای تجزیه و تحلیل یافته‌ها از آمار توصیفی و استنباطی استفاده شد. تحلیل یافته‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنف جهت بررسی توزیع طبیعی داده‌ها و آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) جهت بررسی تفاوت بین گروه‌ها و آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه دو به دو گروه‌ها استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شد و مقادیر $P < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد. کلیه داده‌ها در محیط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

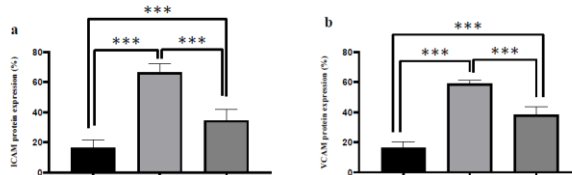
یافته‌ها

تمرین تناوبی سبب کاهش سطوح پروتئین‌های ICAM و VCAM در بافت قلب رت‌های آسمی شد. نتایج این

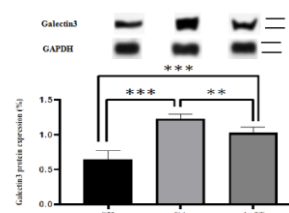
بیماری قلبی عروقی می‌شود و به‌همین دلیل روند پیشرفت آنرواسکلروز را کاهش می‌دهد.^{۲۳} به طوری که مطالعات مختلف نشان دادند که تمرین هوازی موجب کاهش معنادار ICAM و VCAM در بافت ریه موش‌های آسمی شده است،^{۱۵، ۲۴} که نتایج بدست آمده در این پژوهش، همسو با نتایج این مطالعات است. مولکول‌های چسبندگی VCAM-1 و ICAM-1 در بیماری‌های التهابی به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته و در مجاری هوایی بیماران آسمی و در مدل‌های حیوانی آسم به وفور یافت شده است،^{۲۵} اما مطالعات کمی، این متغیرها را در بافت قلب مدل‌های حیوانی آسم بررسی کرده‌اند. گزارش شده است که فعالیت ورزشی با شدت ۷۵ درصد توان هوازی سبب کاهش تولید $TNF-\alpha$ می‌شود و با توجه به اینکه ترشح مولکول‌های چسبان به واسطه افزایش ترشح سایتوکین‌های التهابی تحریک می‌شود، کاهش فاکتورهای پیش التهابی موجب کاهش رهاسازی واسطه‌های شیمیایی و کاهش فاکتورهای نسخه‌بردار پیش التهابی، مانند فاکتور هسته‌ای کاپا-بتا ($NF\kappa-\beta$) شده که می‌تواند در تعدیل التهاب عروقی مؤثر باشد. $NF\kappa-\beta$ به شکل غیرفعال در سیتوپلاسم وجود دارد و واسطه شروع فعالیت اندوتلیالی و ترجمه VCAM-1 و ICAM-1 می‌باشد.^{۲۶} علاوه بر مکانیسم ذکر شده، فعالیت ورزشی سبب افزایش HDL-C پلاسما می‌شود، این ماده موجب ترشح پروستاگلندین از دیواره عروق یا سلول‌های عضلانی صاف شده و با ممانعت از تجمع پلاکت‌ها سبب کاهش مولکول‌های چسبان می‌شود.^{۲۷} سازوکار دیگر در کاهش شاخص‌های التهابی VCAM-1 و ICAM-1 ممکن است اثرات ضد اکسایشی فعالیت‌های ورزشی هوازی باشد. از آنجایی که رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب افزایش بروز میانجی‌های التهابی و ICAM-1 می‌شوند، فعالیت‌های ورزشی هوازی با تقویت دفاع ضد اکسایشی و همچنین کاهش رادیکال‌های آزاد می‌تواند منجر به کاهش شاخص‌های التهابی گردد.^{۲۸} مشاهده شده است که فعالیت ورزشی بلند مدت کاهنده التهاب بوده است، در حالی که فعالیت کوتاه مدت شدید باعث تشدید التهاب می‌شود. قابل ذکر است نوع تمرین پژوهش حاضر نیز از نوع تمرینات تناوبی با شدت متوسط و طولانی مدت بود. اصولاً کاهش سطح سرمی مولکول‌های چسبان در پی اجرای تمرینات ورزشی و سازگاری مشاهده شده بنا به اصل پاسخ وابسته به مقدار فعالیت ورزشی، به شدت، مدت و تکرار جلسات تمرینی بستگی دارد.^{۲۹} همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که سطح پروتئین گالکتین-۳ پس از القای آسم، در بافت



شکل ۲: بررسی ایمونوهیستوشیمیایی شاخص پروتئینی VCAM در بافت قلب گروه‌های مورد پژوهش. بزرگمایی شکل در مقیاس $\times 200$ صورت گرفته است. نقطه‌های پررنگ در شکل، واکنش مثبت سلول‌ها به آنتی‌بادی پروتئین VCAM را نشان می‌دهد.



نمودار ۱: مقادیر سطوح بیان پروتئین ICAM (a) و VCAM (b) در گروه‌های شم (SH)، کنترل آسم (CA) و آسم-تمرین تناوبی (A+IT). *** تفاوت معنی‌داری ($P < 0.001$).



نمودار ۲: مقادیر سطح بیان پروتئین گالکتین-۳ در گروه‌های شم (SH)، کنترل آسم (CA) و آسم-تمرین تناوبی (A+IT). ** تفاوت معنی‌داری ($P < 0.01$), *** تفاوت معنی‌داری ($P < 0.001$).

بحث

این مطالعه با هدف بررسی تاثیر ۸ هفته تمرین تناوبی بر پاسخ برخی از عوامل مؤثر در روند آنرواسکلروز در قلب موش‌های آسمی طراحی شد، که نتایج نشان داد که القای آسم سبب افزایش پروتئین‌های VCAM، ICAM و گالکتین-۳ شد و اجرای هشت هفته تمرین تناوبی به عنوان یکی از درمان‌های جایگزین، توانست کاهش معنی‌داری را در سطح این پروتئین‌ها داشته باشد. بسیاری از افراد مبتلا به آسم، درست همانند کسانی که دچار سایر اختلالات مزمن هستند از درمان‌های جایگزین استفاده می‌کنند.^{۲۳} نتایج بدست آمده این فرضیه را تأیید کرده، که تمرینات تناوبی تأثیر مثبتی در کاهش شاخص‌های التهابی و بهبود آسم دارد. اخیراً برخی از مطالعات به اثرات ضد التهابی ورزش در بیماران آسمی اشاره کرده‌اند. افزایش فعالیت فیزیکی باعث کاهش خطر ابتلا به

می‌توان گفت ورزش می‌تواند به عنوان یک عامل مهم در پیشگیری و کند کردن روند بیماری‌های قلبی در افراد آسمی باشد و این موضوع می‌تواند مورد توجه تحقیقات آینده قرار بگیرد. همچنین، انجام پژوهش‌هایی در ارتباط با سایر عوامل موثر در مسیر پیشرفت آترواسکلروز و نقش انواع فعالیت بدنی بر سطوح این عوامل می‌تواند دورنمای روشنی را در ارتباط با نقش پیشگیرانه و حتی درمانی ورزش در اختیار درمانگران حوزه‌ی بیماری‌های آسمی قرار دهد.

قدردانی

این مطالعه برگرفته از رساله دکتری فیزیولوژی ورزش دانشگاه محقق اردبیلی است. از معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران و همه کسانی که در اجرای این پژوهش همکاری کردند، سپاسگزاری می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

مراحل پژوهش حاضر براساس راهنمایی شورای پژوهش ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت و تلاش بر این بود که هرگونه استرس غیر ضروری به حیوانات حذف گردد. پروتکل این مطالعه در کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل شناسه اخلاق IR.ARUMS.REC.1398.516 به تایید رسیده است و تمام تلاش‌ها برای به حداقل رساندن درد و کاهش تعداد حیوانات مورد نیاز بود.

منابع مالی

این تحقیق با هزینه مالی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شده است.

منافع متقابل

نویسندگان این مقاله منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مولفان

م.ن، م.س و ش.م و ل.ت این پژوهش را اجرا و تحلیل نتایج را به عهده داشته‌اند، همچنین این افراد مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده‌اند.

قلب موش‌های گروه کنترل آسم زیاد شد و به دنبال هشت هفته تمرین تناوبی کاهش معنی‌داری در گروه تمرینی مشاهده شد. به نظر می‌رسد ورزش توانایی تغییر در سطوح گالکتین-۳ را داشته باشد به طوری که نتایج بدست آمده با مطالعه Billebeau و همکاران همسو بود، در این مطالعه که بر روی بیماران مبتلا به نارسایی قلبی انجام شده بود، کاهش در گالکتین-۳ را به احتمال زیاد تاثیر مستقیم تمرینات استقامتی دانستند، چرا که نشان داده شده است که گالکتین-۳ به واسطه داروها یا دستگاه‌های هماهنگ کننده قلبی تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد و این کاهش گالکتین-۳ تاثیر مستقیم فعالیت ورزشی است که تاکنون مکانیسم دقیق اثر ورزش بر گالکتین-۳ مشخص نشده است.^{۱۸} افزایش سطح گالکتین-۳ در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی اهمیت ویژه‌ای دارد. گالکتین نشانگری است که توسط ماکروفاژهای فعال شده قلبی ترشح و نقش مهمی در تغییر وضعیت پاتوفیزیولوژیک بطن چپ دارد. بیان گالکتین در میوسیت‌های قلبی بسیار ناچیز است و در حالت عادی مقدار کمی در قلب وجود دارد ولی با پیشروی سکته قلبی بیان آن به سرعت افزایش می‌یابد و این در بیماران نارسایی قلبی قابل توجه است.^{۳۰} مطالعات محدودی در خصوص پاسخ گالکتین-۳ به فعالیت‌های ورزشی وجود دارد و تاکنون مطالعه‌ای که تاثیرات ورزش را این پروتئین در بیماران آسمی بررسی کند، انجام نشده است. به این ترتیب کاهش عوامل موثر در روند آترواسکلروز در بافت قلب موش‌های گروه آسم-تمرین تناوبی در تحقیق حاضر را می‌توان به تاثیر مستقیم تمرین ورزشی تناوبی بر کاهش سطوح افزایش یافته پروتئین‌های VCAM، ICAM و گالکتین-۳ نسبت داد، بنابراین سنجش فاکتورهای چون VCAM، ICAM و گالکتین-۳ در تحقیقاتی مشابه تحقیق حاضر، پیشنهاد می‌گردد. همچنین، می‌توان گفت فعالیت بدنی می‌تواند به عنوان یک عامل مثبت جهت کاهش پیشرفت بیماری‌های قلبی عروقی و آترواسکلروز ناشی از آسم مورد توجه محققان قرار بگیرد.

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، ۸ هفته تمرین تناوبی توانست سطوح پروتئین VCAM، ICAM و گالکتین ۳ را کاهش دهد و کاهش این عوامل می‌تواند سدی در مقابل پیشرفت آترواسکلروز باشد. از سوی دیگر،

References

1. Xu M, Xu J, Yang X. Asthma and risk of cardiovascular disease or all-cause mortality: a meta-analysis. *Annals of Saudi Medicine*. 2017;37(2):99-105. doi: 10.5144/0256-4947.2017.99.
2. Boulet L-P, FitzGerald JM, Reddel HK. The revised 2014 GINA strategy report: opportunities for change. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. 2015;21(1):1-7. doi: 10.1097/MCP.0000000000000125.
3. Cakmak A, Zeyrek D, Cece H, Erel O. The relationship between carotid intima media thickness and oxidative stress in asthmatic children. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*. 2010;28(4):256.
4. Bacon SL, Lemiére C, Moullec G, Ninot G, Pepin V, Lavoie KL. Association between patterns of leisure time physical activity and asthma control in adult patients. *BMJ Open Respiratory Research*. 2015;2(1):e000083. doi: 10.1136/bmjresp-2015-000083.
5. Emanzade R, Soori R, Sohaily S, Shakeri N. The effect of aerobic intermittent training on resting level of serum vascular cell adhesion molecules in sedentary young women. *J Exp Biol*. 2012;4:1039-43.
6. Ko W-C, Choy C-S, Lin W-N, Chang S-W, Liou J-C, Tung T-H, et al. Galectin-3 Interacts with Vascular Cell Adhesion Molecule-1 to Increase Cardiovascular Mortality in Hemodialysis Patients. *Journal of Clinical Medicine*. 2018;7(10):300. doi: 10.3390/jcm7100300.
7. Siuf Jahromi M, Ebrahim K, Babaeibeigi M, Nikbakht H. Effect of Cardiac Rehabilitation with Severe Periodic Exercise Activity on Serum Glycine3 and Mutagenic Fraction in Patients with Heart Failure. *Armaghane-danesh* 2018;22(6):754-65.
8. Yin QS, Shi B, Dong L, Bi L. Comparative study of galectin-3 and B-type natriuretic peptide as biomarkers for the diagnosis of heart failure. *J Geriatr Cardiol*. 2014 Mar;11(1):79-82. doi: 10.3969/j.issn.1671-5411.2014.01.014.
9. Koh Y, Park J. Cell adhesion molecules and exercise. *J Inflamm Res*. 2018 Jul 24;11:297-306. doi: 10.2147/JIR.S170262
10. Farid R, Ghasemi R, Jabari Af, Baradaran Rm, Talaei Km, Ghafari J, Ebrahimi Aa, Khaledan A. Effect of aerobic exercise training on pulmonary function and tolerance of activity in asthmatic patients.
11. Carson KV, Chandratilleke MG, Picot J, Brinn MP, Esterman AJ, Smith BJ. Physical training for asthma. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013(9). doi: 10.1002/14651858.CD001116.pub4.
12. Winzer B, Woitek F, Linke A. Physical Activity in the Prevention and Treatment of Coronary Artery Disease. *J Am Heart Assoc*. 2018 Feb 8;7(4):e007725. doi: 10.1161/JAHA.117.007725.
13. Ram FS, Robinson SM, Black PN. Effects of physical training in asthma: a systematic review. *Br J Sports Med*. 2000 Jun;34(3):162-7. doi: 10.1136/bjsm.34.3.162.
14. Shanely R, Nieman D, Henson D, Jin F, Knab A, Sha W. Inflammation and oxidative stress are lower in physically fit and active adults. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2013;23(2):215-23. doi: 10.1111/j.1600-0838.2011.01373.x.
15. Silva RA, Almeida FM, Olivo CR, Saraiva-Romanholo BM, Martins MA, Carvalho CR. Exercise reverses OVA-induced inhibition of glucocorticoid receptor and increases anti-inflammatory cytokines in asthma. *Scand J Med Sci Sports*. 2016 Jan;26(1):82-92. doi: 10.1111/sms.12411.
16. Hejazi SM, Abrishami LH, Mohammad Khani J, Boghrabadi V. The effects of 8-week aerobic exercises on serum levels of cell adhesion molecules among middle-aged women. *Advanced Studies in Biology*. 2013;5(6):279-89. doi: 10.12988/asb.2013.3210.
17. Hättasch R, Spethmann S, de Boer RA, Ruifrok WP, Schattke S, Wagner M, et al. Galectin-3 increase in endurance athletes. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2014;21(10):9-1192. doi: 10.1177/2047487313492069.
18. Billebeau G, Vodovar N, Sadoune M, Launay J-M, Beauvais F, Cohen-Solal A. Effects of a cardiac rehabilitation programme on plasma cardiac biomarkers in patients with chronic heart failure. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2017;24(11):35-1127. doi: 10.1177/2047487317705488.
19. Kodesh E, Zaldivar F, Schwindt C, Tran P, Yu A, Camilon M, et al. A rat model of exercise-induced asthma: a nonspecific response to a specific immunogen. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2011;300(3):R917-R24. doi: 10.1152/ajpregu.00270.2010.
20. Mirdar S, Arzani A, Arabzadeh E, Neyestani F, Baghbani MA, Sajad. The Effect of a Period of Interval

- Training and Step Taper on Performance Indexes in Male Rats during Puberty. *Journal of Sport Biosciences*. 2015;7(4):34-619. doi: 10.22059/jsb.2015.57287.
21. Mirdar S, Naiestany F, Hamidian G, Hedayati M. Increment of alveolar macrophages and pulmonary surfactant of young male rats after six weeks interval training. *Sport Physiology*. 2018 Apr 29;9(36):59-72. doi: 10.22089/spj.2018.2114.1281.
22. Blanc PD, Trupin L, Earnest G, Katz PP, Yelin EH, Eisner MD. Alternative therapies among adults with a reported diagnosis of asthma or rhinosinusitis: data from a population-based survey. *Chest*. 2001;120(5):1461-7. doi: 10.1378/chest.120.5.1461.
23. Kadoglou N, Iliadis F, Liapis C. Exercise and carotid atherosclerosis. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2008;35(3):264-72. doi: 10.1016/j.ejvs.2007.08.022.
24. Vieira R, Silva R, Oliveira-Junior M, Greiffo F, Ligeiro-Oliveira A, Martins M, et al. Exercise deactivates leukocytes in asthma. *International Journal of Sports Medicine*. 2014;35(07):629-35. doi: 10.1055/s-0033-1358477.
25. Ferreira S, Toledo A, Hage M, Santos A, Medeiros M, Martins MdA, et al. Creatine activates airway epithelium in asthma. *International Journal of Sports Medicine*. 2010;31(12):906-12. doi: 10.1055/s-0030-1267160.
26. Ding Y-H, Young CN, Luan X, Li J, Rafols JA, Clark JC, et al. Exercise preconditioning ameliorates inflammatory injury in ischemic rats during reperfusion. *Acta Neuropathologica*. 2005;109(3):237-46. doi: 10.1007/s00401-004-0943-y.
27. Mogharnasi M, Gaeini Aa, Sheykh Av. Effect of sprint training and detraining period on cellular adhesion molecule (sICAM-1) in wistar rats.
28. Akazawa N, Choi Y, Miyaki A, Tanabe Y, Sugawara J, Ajisaka R, Maeda S. Curcumin ingestion and exercise training improve vascular endothelial function in postmenopausal women. *Nutr Res*. 2012 Oct;32(10):795-9. doi: 10.1016/j.nutres.2012.09.002.
29. Soori R, RAVASI A, Salehi M. The Effect of Aerobic Training on Levels of Vascular and Intracellular Adhesion Molecules in Overweight Middle-aged Women. *Sport Biosciences*. 2011;8:55-69.
30. De Boer RA, Van Der Velde AR, Mueller C, Van Veldhuisen DJ, Anker SD, Peacock WF, et al. Galectin-3: a modifiable risk factor in heart failure. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2014;28(3):237-46. doi: 10.1007/s10557-014-6520-2.