



# Effect of Caffeine and Genistein Supplement on Cardiac Levels of Nitric Oxide and Vascular Endothelial Growth Factor in Wistar Rats, Following an Acute Swimming Exercise

## ARTICLE INFO

### Article Type

Original Research

### Authors

Sahafian M.<sup>1</sup> MSc,  
Farzanegi P.\* PhD,  
Abbaszadeh H.<sup>1</sup> PhD,  
Vizvari E.<sup>1</sup> PhD

### How to cite this article

Sahafian M, Farzanegi P, Abbaszadeh H, Vizvari E. Effect of Caffeine and Genistein Supplement on Cardiac Levels of Nitric Oxide and Vascular Endothelial Growth Factor in Wistar Rats, Following an Acute Swimming Exercise. Pathobiology Research. 2018;21(1):23-28.

\*Exercise Physiology Department, Humanities Faculty, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

<sup>1</sup>Exercise Physiology Department, Humanities Faculty, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

### Correspondence

Address: Humanities Faculty, Sari Branch, Islamic Azad University, Kilomert 7 Darya Road, Sari, Iran.  
Postal Code: 4816119318  
Phone: +98(11)34445814  
Fax: +98(11)42267216  
parvin.farzanegi@gmail.com

### Article History

Received: August 22, 2017  
Accepted: November 14, 2017  
ePublished: April 10, 2018

## ABSTRACT

**Aims** Exercise activity and the use of herbal supplements are effective in regulating vascular contraction by influencing on angiogenesis factors. The purpose of this study was to investigate the effect of caffeine and genistein supplement on cardiac levels of nitric oxide (NO) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in wistar rats, following an acute swimming exercise.

**Materials & Methods** In this experimental study, 49 male Wistar 8-10-week rats were randomly divided into 7 groups of control, saline, acute exercise, caffeine, genistein, acute swimming exercise plus caffeine, and acute swimming exercises plus genistein (7 rats in each group). Acute exercise included 90 minutes swimming. Dietary supplement groups, took the caffeine at a rate of 5mg/kg of body weight by gavage and Genistein in the amount of 100mg/kg of body weight by intra peritoneal injection. Two hours after the end of the training session, the levels of NO and VEGF were measured by ELISA. Data were analyzed by SPSS 20 software using one-way ANOVA.

**Findings** 90 minutes swimming exercise caused a significant increase in cardiac levels of NO and VEGF in acute exercise, acute exercise plus caffeine, acute exercise plus genistein in comparison to the control and saline groups ( $p=0.01$ ), while supplementation of caffeine or genistein alone did not significantly increase the levels of cardiac level of these factors compared to control and saline groups.

**Conclusion** The supplementation of caffeine and genistein increases the levels of NO and VEGF of the heart tissue of rats following an acute swimming session.

**Keywords** Exercise; Nitric Oxide; Vascular Endothelial Growth Factor; Caffeine; Genistein

## CITATION LINKS

[1] Physical inactivity and related factors in an adult tehranian ... [2] The response of vascular endothelial growth factor to exhausted submaximal exercise and ... [3] The effect of aerobic interval training on endothelial vasculature function in ... [4] The Effect of regular endurance exercises and Galbanum supplement on vascular Function during chronic hypertension in ... [5] Changes in stimulating factors of angiogenesis, induced by progressive ... [6] Exercise and vascular adaptation in asymptomatic ... [7] Effects of acute eccentric exercise on serum vascular endothelial ... [8] Effect of vitamin E supplementation and acute a Resistance training on ... [9] Effect of acute exercise and exercise training on VEGF splice variants in ... [10] Exercise increases endostatin in circulation of healthy ... [11] The influence of physical exercise on the ... [12] Effect of short-term caffeine supplementation on downhill running induced inflammatory response in ... [13] Effects of coffee consumption on oxidative susceptibility ... [14] Effect of caffeine on blood pressure during exercise and at rest in ... [15] Low doses of caffeine reduce heart rate during submaximal ... [16] Genistein activates the 3',5'-cyclic adenosine monophosphate ... [17] Genistein acutely stimulates nitric oxide synthesis ... [18] Insulin-like growth factor-I plays a pathogenetic role ... [19] The effects of five weeks' resistance training on some ... [20] Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric ... [21] Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor ... [22] Effects of acute exercise training and hypoxia on vascular endothelial cell growth factor ... [23] The effect of acute sub-maximal endurance exercise on serum angiogenic ... [24] The serum levels of growth factors: PDGF, TGF-beta and VEGF are increased after ... [25] Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and ... [26] Caffeine-induced endothelial cell death and the inhibition of ... [27] Exercise training could improve age-related changes in cerebral blood flow and capillary vascularity through the upregulation of ... [28] Effect of Genistein on reproductive parameter and serum nitric oxide levels in ...

## تاثیر مصرف مکمل کافئین و جنیستئین بر سطوح نیتریک اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بافت قلب موش‌های صحرایی، متعاقب یک جلسه تمرین حاد شنا

مریم صحافیان MSc

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

پروین فرزانی PhD\*

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

هاجر عباسزاده PhD

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

اکسیر ویزواری PhD

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

### چکیده

**اهداف:** فعالیت ورزشی و مصرف مکمل‌های گیاهی از طریق تاثیر بر فاکتورهای رگ‌زایی، در تنظیم انقباض عروقی موثرند. هدف پژوهش حاضر، بررسی تاثیر مصرف مکمل کافئین و جنیستئین بر سطوح نیتریک اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بافت قلب موش‌های صحرایی، متعاقب یک جلسه تمرین حاد شنا بود.

**مواد و روش‌ها:** در پژوهش تجربی حاضر، ۴۹ سرموش صحرایی نر ۱۰-۸ هفته‌ای از نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۷ گروه کنترل، سالین، تمرین حاد شنا، کافئین، جنیستئین، تمرین حاد شنا به علاوه کافئین و تمرین حاد شنا به علاوه جنیستئین تقسیم شدند (۷ سر در هر گروه). تمرین به صورت یک جلسه تمرین حاد شنا به مدت ۹۰ دقیقه بود. گروه‌های دریافت‌کننده مکمل، کافئین را به میزان ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوژ و جنیستئین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق زیرصفاقی دریافت کردند. ۲ ساعت پس از اتمام جلسه تمرین، سطوح قلبی نیتریک اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی به روش الیزا اندازه‌گیری شد. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 20 از طریق تحلیل واریانس یک طرفه صورت گرفت.

**یافته‌ها:** اجرای ۹۰ دقیقه تمرین حاد شنا سبب افزایش معنی‌دار سطوح قلبی نیتریک اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در گروه‌های تمرین حاد شنا، تمرین به علاوه کافئین و تمرین به علاوه جنیستئین نسبت به گروه کنترل و سالین شد ( $p=0/01$ )، در حالی که دریافت مکمل کافئین یا جنیستئین به تنهایی سبب افزایش معنی‌دار سطوح بافت قلبی این فاکتورها نسبت به گروه‌های کنترل و سالین نشد.

**نتیجه‌گیری:** مصرف مکمل کافئین و جنیستئین باعث افزایش سطوح نیتریک اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بافت قلب موش‌های صحرایی متعاقب یک جلسه تمرین حاد شنا می‌شود.

**کلیدواژه‌ها:** تمرین، نیتریک اکساید، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، کافئین، جنیستئین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۲۳

\*نویسنده مسئول: parvin.farzanegi@gmail.com

### مقدمه

از جمله مشکلات مهم حوزه سلامت در اکثر دنیا به خصوص کشورهای توسعه‌یافته، بیماری‌های قلبی-عروقی است که یکی از دلایل اصلی مرگ‌ومیر به شمار می‌آید<sup>[1]</sup>. از آنجایی که فعالیت ورزشی از طریق کاهش یا تعدیل عوامل خطرزای سلامتی، نقش موثری در سلامت جسمی و روانی دارد همواره مد نظر متخصصان است<sup>[2]</sup>. متعاقب تمرینات ورزشی، تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی عمده‌ای برای برطرف‌ساختن شرایط استرسی ناشی از

فعالیت ورزشی و بهبود در عملکرد قلبی و عروقی رخ می‌دهد<sup>[1, 2]</sup>. یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های حاصله در سطح عضله اسکلتی و قلبی، افزایش چگالی موبیرگی یا رگ‌زایی (آنژیوژنز) است<sup>[2]</sup>. فاکتورهای متعددی در رگ‌زایی دخیل هستند که از آنها می‌توان به نیتریک اکساید (NO) و فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی (VEGF) اشاره نمود<sup>[3]</sup>. NO توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (NOS) از ال-آرژنین ساخته شده است و از اندوتلیوم عروق در پاسخ به تحریک فیزیولوژیکی و مکانیکی رها می‌شود که نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی و آسیب‌شناختی متعدد از جمله سبب گشادشدن رگ‌ها، ممانعت از تجمع پلاکت‌ها و همچنین مانع از چسبندگی لکوسیت‌ها دارد<sup>[4]</sup>. VEGF نیز از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های اختصاصی رگ‌زایی است که تکثیر و تمایز سلول‌های اندوتلیال را تحریک می‌کند، نفوذپذیری عروقی را افزایش می‌دهد، از آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال جلوگیری و اتساع رگ‌های خونی را نیز تنظیم می‌کند<sup>[5]</sup>.

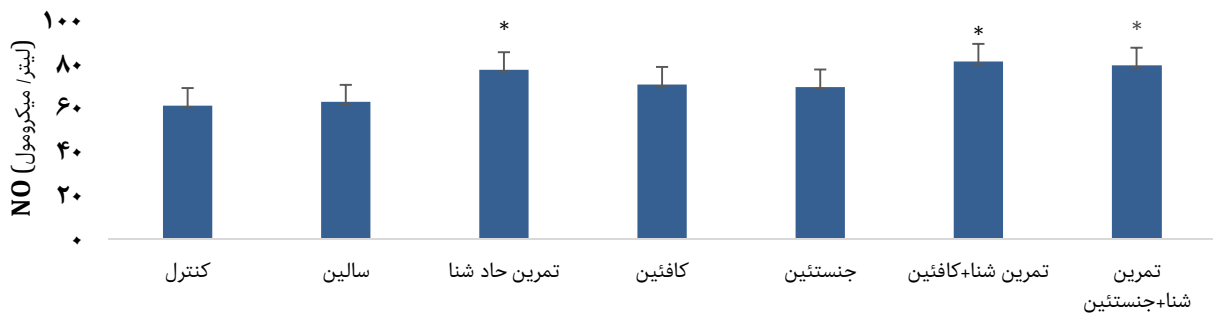
مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت بدنی نیز سبب افزایش رگ‌زایی می‌شود که از طریق افزایش تنش برشی ناشی از افزایش جریان خون طی فعالیت بدنی اعمال می‌شود. تغییرات متوالی در تنش برشی، منجر به افزایش فعالیت زیستی NO و VEGF می‌شود<sup>[6]</sup>. براساس گزارش محققان، فعالیت‌های حاد مقاومتی و استقامتی از طریق افزایش بیان فاکتورهای رگ‌زایی مانند NO و VEGF، محرک فرآیند رگ‌زایی هستند و نوع تمرینات ورزشی از نظر شدت و مدت تمرین و مدت دوره بازیافت پس از ورزش، از عوامل اثرگذار بر این ارتباط است<sup>[7]</sup>. فلاح‌محمدی و همکاران در پژوهش خود نشان داده‌اند که انجام برنامه تمرین مقاومتی تک‌جلسه‌ای سبب افزایش معنی‌دار سطوح سرمی NO شده است<sup>[8]</sup> که با نتایج سایر محققان که فعالیت و رهایی NO به دنبال فعالیت ورزشی را اعلام داشته‌اند، مشابه بوده است<sup>[4, 6]</sup> و البته بیشتر محققان به بررسی تاثیر فعالیت‌های طولانی‌مدت بر سطوح NO پرداخته‌اند. بررسی تحقیقات در مورد پاسخ VEGF به یک وهله فعالیت ورزشی، نتایج متناقضی را نشان داده است و این تناقض در مراحل زمانی مختلف بعد از فعالیت نیز وجود داشته است. در برخی پژوهش‌ها افزایش سطوح سرمی VEGF به دنبال فعالیت ورزشی حاد، مشاهده شده است<sup>[9]</sup>، اما جیو و همکاران نشان داده‌اند که سطوح سرمی VEGF در فواصل ۳۰ دقیقه، ۲ و ۶ ساعت بعد از ۱۹ دقیقه دویدن روی نوارگردان کاهش یافته است<sup>[10]</sup>. زارکوفسکا-پازک و همکاران، VEGF موجود در بافت چربی ۵۹ موش صحرایی را مورد ارزیابی قرار داده‌اند که سطح VEGF بلافاصله و ۳ ساعت بعد از تمرین نسبت به قبل از تمرین تغییری نداشته است<sup>[11]</sup>.

امروزه استفاده از مکمل‌های گیاهی به دلیل داشتن عوارض جانبی کمتر، نسبت به داروهای شیمیایی، مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند. مکمل‌های مورد بررسی در این پژوهش کافئین و جنیستئین بودند. کافئین (۱، ۳ و ۷ تری‌متیل‌گزان‌تین) به عنوان یک آلکالوئید خوراکی موجود در قهوه، کاکائو و چای با بلورهای سفید و فرمول شیمیایی  $C_8H_{10}N_4O_2$  است که به طور عمده از گیاهی به نام کافئا عربیکا (*Coffea arabica*) به دست می‌آید و دارای خواصی مشابه با تئوفیلین و تئوبرومین است<sup>[12]</sup>. کافئین واکنش‌های مختلفی در طیف گسترده‌ای از سیستم‌های زیستی بدن از جمله تحریک سیستم عصبی مرکزی و عضله قلب، افزایش برون‌ده ادراری و افزایش سطح کلسیم ادرار را دارد و همچنین منجر به ضریب نامنظم قلب و افزایش فشار خون خواهد شد<sup>[13]</sup>، به طوری که دمیرچی و همکاران، افزایش فشار خون سیستولی و

برنامه اصلی که شامل شنا کردن به مدت ۹۰ دقیقه بود، انجام شد. همچنین ۵ دقیقه زمان، قبل و بعد از تمرین، برای گرم و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد. پس از انجام تمرینات شنا در هر جلسه، حیوانات در هیتر مخصوص جوندگان قرار می‌گرفتند و به مدت ۱۰ دقیقه در معرض جریان هوای گرم با دمای  $28^{\circ}\text{C}$  قرار گرفته و خشک می‌شدند. مکمل‌های کافئین و جنیستئین (سیگما؛ آلمان) از شرکت‌های سازنده معتبر خریداری شدند و براساس مطالعات موجود، گروه‌های دریافت‌کننده مکمل و تمرین مکمل، مکمل کافئین را به میزان ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوژ و جنیستئین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق زیرصفاقی دریافت کردند. ۲ ساعت پس از اتمام جلسه تمرین، موش‌ها با تزریق داخل صفاقی، ترکیبی از کتامین به صورت ۵۰-۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین به صورت ۵-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. بافت قلب بلافاصله جدا شد و در فریزر با دمای  $-70^{\circ}\text{C}$  برای اندازه‌گیری سطوح NO و VEGF نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز شده و ۱۱ و ۳۰ دقیقه به اتمام رسید. سطوح NO با تبدیل نیتریک‌اکساید به متابولیت‌های پایدار آن (احیای یون‌های نیترات به نیتريت از طریق نیترات‌ردوکتاز) و اندازه‌گیری غلظت نیترات به نیتريت با استفاده از روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. غلظت VEGF بافت قلب با روش الیزا و با استفاده از کیت تخصصی و براساس دستورالعمل شرکت (Bosterbio؛ چین) با حساسیت ۵/۱ نانوگرم بر لیتر سنجش شد. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 20، از طریق آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها، آزمون لون برای بررسی تجانس واریانس‌ها، تحلیل واریانس یک‌طرفه برای بررسی تغییرات معنی‌داری سطوح نیتریک‌اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بافت قلب موش‌های صحرایی در ۷ گروه و در صورت معنی‌داری، آزمون تعقیبی توکی صورت گرفت.

### یافته‌ها

اجرای ۹۰ دقیقه تمرین شنا سبب افزایش معنی‌دار سطوح قلبی NO بین گروه‌ها شد ( $p=0/01$ ). سطوح NO، بین گروه‌های تمرین، تمرین به علاوه کافئین و تمرین به علاوه جنیستئین، نسبت به گروه کنترل (به ترتیب  $p=0/006$ ;  $p=0/001$ ;  $p=0/002$ ) و سالیین (به ترتیب  $p=0/016$ ;  $p=0/001$ ;  $p=0/005$ ) تفاوت معنی‌داری داشت، در حالی که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کافئین و جنیستئین مشاهده نشد ( $p>0/05$ ; نمودار ۱).



نمودار ۱) مقایسه میانگین سطوح قلبی NO (نیتریک‌اکساید) ۴۹ سر موش صحرایی در ۷ گروه (۷ سر در هر گروه)

\*: نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل و سالیین در سطح معنی‌داری ۰/۰۱.

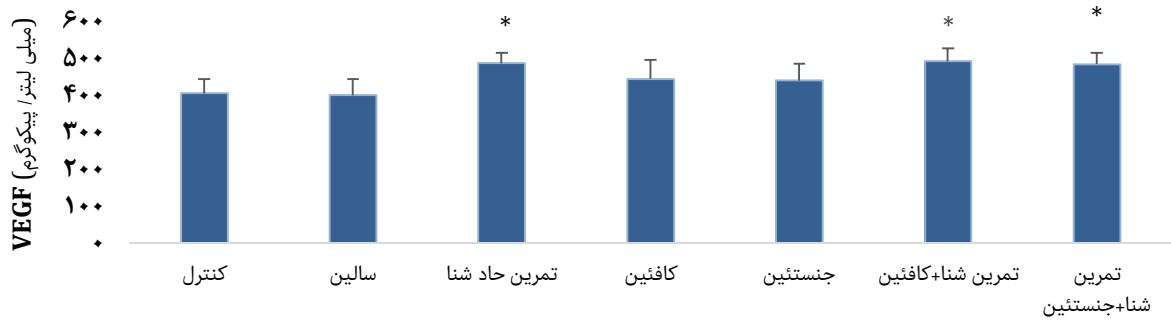
دیاستولی را در گروه دریافت‌کننده کافئین مشاهده کرده‌اند [14]. از طرفی طی پژوهشی دیگر استفاده از کافئین، سبب کاهش ضربان قلب در فعالیت با شدت زیر بیشینه شده است [15]. بیشتر محققان به بررسی تأثیر کافئین بر میزان خستگی و فاکتورهای نشان‌دهنده آسیب عضلانی و دیگر فاکتورها، نسبت به NO و VEGF پرداخته‌اند و پژوهش‌ها در این زمینه اندک بوده است. همچنین، جنیستئین، فیتواستروژنی است که در بعضی از گیاهان خوراکی و حبوبات مخصوصاً دانه سویا یافت می‌شود و دارای مجموعه‌ای از آثار زیستی از جمله اثرات استروژنی ضعیف، مهار تیروزین‌کیناز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. مطالعات اخیر نشان داده است که جنیستئین ممکن است عملکرد عروق را بهبود بخشد [16]. طبق گزارش لیو و همکاران، جنیستئین سبب افزایش تولید NOS و NO شده است [17]. با توجه به اینکه بیشتر محققان به بررسی اثر تمرینات طولانی‌مدت این مکمل‌ها پرداخته‌اند و تاکنون تحقیقاتی در زمینه اثر تمرین حاد به خصوص شنا و همچنین استفاده از مکمل‌های کافئین و جنیستئین به همراه فعالیت ورزشی حاد بر سطوح NO و VEGF مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر مصرف مکمل کافئین و جنیستئین بر سطوح نیتریک‌اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بافت قلب موش‌های صحرایی، متعاقب یک جلسه تمرین حاد شنا بود.

### مواد و روش‌ها

پژوهش تجربی حاضر، روی ۴۹ سر موش صحرایی نر ۱۰-۸ هفته‌ای و وزن ۲۰۰-۱۵۰ گرم از نژاد ویستار انجام شد. حیوانات پس از خریداری از انستیتو پاستور تهران و انتقال به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی و سازگاری ۲ هفته‌ای با محیط جدید، به صورت تصادفی به ۷ گروه کنترل، سالیین، تمرین حاد شنا، کافئین، جنیستئین، تمرین حاد شنا به علاوه کافئین و تمرین حاد شنا به علاوه جنیستئین تقسیم شدند (۷ سر در هر گروه). حیوانات طی پژوهش، در قفس پلی‌اتیلنی  $15 \times 15 \times 30$  سانتی‌متری با دمای  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ، میزان رطوبت ۵۵٪ و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ نگهداری شدند و آب و غذای پلت (بهپور؛ ایران) مورد نیاز را به صورت آزادانه در دسترس داشتند. آزمودنی‌های گروه‌های تمرینی قبل از شروع برنامه اصلی، به منظور آشنایی با شنا، به مدت یک هفته (۵ روز) در استخر مخصوص جوندگان با ابعاد  $70 \times 90 \times 150$  سانتی‌متر و با دمای آب  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  تمرین داده شدند، به طوری که طی این جلسات، مدت و شدت تمرین به تدریج افزایش یافت. ۲۴ ساعت بعد از برنامه تمرینی،

سطوح قلبی VEGF، متعاقب ۹۰ دقیقه تمرین شنا افزایش معنی‌داری بین گروه‌ها داشت ( $p=0/01$ ).  
سطوح VEGF بین گروه‌های تمرین، تمرین به علاوه کافئین و تمرین به علاوه جنیستین، نسبت به گروه کنترل (به ترتیب

$p=0/003$ ؛  $p=0/008$ ؛  $p=0/002$ ؛  $p=0/005$ ) و سالیین (به ترتیب  $p=0/003$ ؛  $p=0/004$ ؛  $p=0/001$ ) تفاوت معنی‌داری را نشان داد، در حالی که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کافئین و جنیستین مشاهده نشد ( $p>0/05$ ؛ نمودار ۲).



نمودار ۲) مقایسه سطوح قلبی VEGF (فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی) ۴۹ سر موش صحرایی در ۷ گروه (۷ سر در هر گروه) \* : نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل و سالیین در سطح معنی‌داری ۰/۰۱

دایره‌ای تک جلسه‌ای سبب افزایش معنی‌دار سطوح سرمی NO در آزمودنی‌ها شده است [18]. گراهام و راش نیز افزایش معنی‌دار سطوح NO دیواره آئورت در موش‌ها را متعاقب تمرین هوازی مشاهده کرده‌اند [20]. دیگر مشاهدات نیز افزایش انتشار NO ناشی از فعالیت بدنی را گزارش کرده‌اند [4, 6]. همسو با نتایج پژوهش حاضر که فعالیت حاد شنا سبب افزایش سطوح قلبی VEGF شد، در پژوهش طاهری و همکاران نیز فعالیت ورزشی وامانده‌ساز با دوجرخه کارسنج، موجب افزایش معنی‌دار VEGF سرمی بلافاصله و دو ساعت بعد از اجرا شده است [2]. در پژوهش دیگری، بررسی اثر تمرین مقاومتی حاد بر بیان ژن VEGF در عضله اسکلتی افراد غیرفعال، افزایش معنی‌داری را نشان داده است [21]. در مطالعه دیگری نیز اثر تمرین حاد و طولانی‌مدت بر بیان VEGF در عضله دوقلوی موش‌ها بررسی شده است که هم تمرین حاد و هم تمرین طولانی‌مدت، سبب افزایش معنی‌دار بیان VEGF شده است و پاسخ تمرین طولانی‌مدت نسبت به حاد بیشتر بوده است [22]. ولی در پژوهشی سطوح سرمی VEGF در پاسخ به فعالیت برون‌گرای حاد، بلافاصله و ۲۴ ساعت بعد از فعالیت در موش‌ها کاهش معنی‌داری را نشان داده است [7]. رنجبر و همکاران نیز تاثیر تمرین حاد استقامتی در مردان غیرفعال را بررسی کرده‌اند که بلافاصله بعد از فعالیت، کاهش معنی‌دار و دو ساعت بعد، افزایش معنی‌داری را مشاهده کرده‌اند [23]. به نظر می‌رسد، پاسخ VEGF با توجه به نوع برنامه تمرینی و وضعیت آمادگی آزمودنی‌ها متفاوت است. در این زمینه زارکوفسکا-پازک و همکاران با ۱۸ دقیقه اجرای بیشینه روی دوجرخه کارسنج در آزمودنی‌های تمرین‌کرده، متوجه افزایش سطوح سرمی VEGF بلافاصله بعد از فعالیت شده‌اند، ولی دو ساعت بعد از اجرا، این افزایش معنی‌دار نبوده است [24]. کراس و همکاران نیز متعاقب یک ساعت رکاب‌زدن در شدت ثابت، حداکثر اکسیژن مصرفی ۵۰٪ را نشان داده‌اند که یک جلسه تمرین هوازی، موجب افزایش در سطوح سرمی VEGF در افراد فعال شده است، ولی در افراد غیرفعال تغییر معنی‌داری مشاهده نشده است [25]. همچنین در پژوهش حاضر گروه‌هایی که به همراه تمرین حاد شنا، مکمل کافئین یا جنیستین را دریافت کرده بودند، افزایش معنی‌داری در سطوح قلبی NO (به ترتیب ۳۲/۷۵٪ و ۲۹/۸۵٪) و VEGF (به ترتیب ۲۱/۴۸٪، ۱۹/۳۶٪) آنها مشاهده شد. طبق گزارش محققانی که به بررسی فاکتورهای ایجادکننده آپوپتوز در

## بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر مصرف مکمل کافئین و جنیستین بر سطوح نیتریک اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بافت قلب موش‌های صحرایی، متعاقب یک جلسه تمرین حاد شنا بود. براساس نتایج به دست آمده، ۹۰ دقیقه تمرین حاد شنا و همچنین انجام تمرین شنا به همراه مصرف مکمل اعم از کافئین و جنیستین سبب افزایش معنی‌دار سطوح قلبی NO و VEGF نسبت به گروه کنترل و سالیین شد، در حالی که در گروه‌های مکمل، سطوح قلبی NO و VEGF نسبت به گروه‌های کنترل و سالیین افزایش معنی‌داری نداشت. عوامل موثر بر ایجاد رگ‌زایی شامل عوامل همودینامیک و متابولیک هستند. عوامل همودینامیک مثل فعالیت فیزیکی، تنش برشی و کشش وارد شده بر دیواره عروق است. تنش برشی سبب افزایش نیتریک اکساید سنتتاز در سلول اندوتلیال می‌شود که نیتریک اکساید سنتتاز آزاد شده از سلول با کمک کمپلکس نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید (NADPH)، موجب تبدیل ال-آرژنین به ال-سیترویلین و افزایش NO می‌شود [4]. البته فعالیت ورزشی می‌تواند اتساع عروق وابسته به NO را بدون افزایش در بیان نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیومی بهبود بخشد که از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند افزایش سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و افزایش گلوکوتانیون پروکسیداز (GPX) توجیه می‌شود [18]. عوامل متابولیک نیز مانند فاکتورهای رشدی است. فعالیت بدنی سبب افزایش سطوح هورمون‌های رشدی از جمله هورمون رشد (GH) می‌شود که به تبع آن فعال‌سازی محور GH-IGF1 (هورمون رشد- فاکتور رشد شبه‌انسولینی) صورت گرفته و سبب افزایش میزان فاکتورهای رگ‌زایی می‌شود. این محور از طریق فعال‌سازی فسفاتیدیل اینوزیتول تری کیناز (IP3K) و پروتئین کیناز B (AKT)، موجب افزایش فاکتور القاکننده هیپوکسی (HIF) می‌شود که این فاکتور با اثرگذاری بر ناحیه پیش‌برنده ژن VEGF سبب افزایش بیان آن می‌شود و احتمالاً از این طریق، افزایش بیان ژن فاکتورهای رگ‌زایی را باعث می‌شود [17, 18]. از سوی دیگر، هورمون رشد عاملی برای فعال‌سازی نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیالی و تولید NO است که این مسیر نیز می‌تواند از طریق رگ‌گشایی، عاملی برای رگ‌زایی باشد [19]. در راستای نتایج پژوهش حاضر، انجام برنامه تمرین مقاومتی

مطالعات آتی، اثرات تعاملی گیاهان مختلف از قبیل زعفران و جنسینگ با تمرینات استقامتی در موش‌های صحرایی بررسی شود.

### نتیجه‌گیری

مصرف مکمل کافئین و جنیستئین باعث افزایش سطوح نیتریک‌اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بافت قلب موش‌های صحرایی متعاقب یک جلسه تمرین حاد شنا می‌شود.

**تشکر و قدردانی:** از کلیه کسانی که در این پژوهش ما را یاری کرده‌اند، کمال تشکر را داریم.

**تأییدیه اخلاقی:** این مطالعه براساس دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری انجام شد.

**تعارض منافع:** هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

**سهم نویسندگان:** مریم صحافیان (نویسنده اول)، روش‌شناس (۲۵٪)؛ پروین فرزانی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/نگارنده

بحث (۲۵٪)؛ هاجر عباس‌زاده (نویسنده سوم)، تحلیلگر آماری (۲۵٪)؛ اکسیر ویزواری (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی (۲۵٪).

**منابع مالی:** این پژوهش با هزینه شخصی انجام شد.

### منابع

- 1- Momenan A, Delshad M, Mirmiran P, Ghanbarian A, Safarkhani M, Azizi F. Physical inactivity and related factors in an adult tehranian population (Tehran lipid and glucose study). *Iran J Endocrinol Metab.* 2012;13(5):493-503. [Persian]
- 2- Taheri Chadorneshin H, Nourshahi M, Ranjbar K. The response of vascular endothelial growth factor to exhausted submaximal exercise and its relationship with VO<sub>2</sub>max. *J Sport Biosci.* 2010;2(7):57-75. [Persian]
- 3- Ghardashi Afousi AR, Gaeini A, Gholami Borujeni B. The effect of aerobic interval training on endothelial vasculature function in type 2 diabetes patient. *Iran J Rehabil Nurs.* 2016;2(3):27-39. [Persian]
- 4- Jalali Z, Dabidi Roshan V. The Effect of regular endurance exercises and Galbanum supplement on vascular Function during chronic hypertension in male wistar rats. *Sport Biosci (Harakat).* 2014;6(1):95-113. [Persian]
- 5- Mahrou M, Gaeini AA, Chobbineh S, Javidi M. Changes in stimulating factors of angiogenesis, induced by progressive resistance training in diabetic rats. *Iran J Diabet Metab.* 2014;14(1):1-8. [Persian]
- 6- Green DJ, Spence A, Halliwill JR, Cable NT, Thijssen DH. Exercise and vascular adaptation in asymptomatic humans. *Exp Physiol.* 2011;96(2):57-70.
- 7- Nourshahi M, Fayaz-Milani R, Gholamali M. Effects of acute eccentric exercise on serum vascular endothelial growth factor and endostatin concentration in male wistar rats. *J Sport Biomotor Sci.* 2011;3(5):86-94. [Persian]
- 8- Fallah Mohammadi Z, Dabidi Roshan V, kanemati H. Effect of vitamin E supplementation and acute a Resistance training on CPK, LDH, and plasma nitric oxide in inactive men. *Olympic.* 2011;19(3):35-46. [Persian]
- 9- Jensen L, Pilegaard H, Neuffer PD, Hellsten Y. Effect of

موش‌ها پرداخته‌اند، کافئین، سبب مرگ سلول‌های اندوتلیال می‌شود و از آن به‌عنوان مهارکننده رگ‌زایی نام برده‌اند [26] که پژوهش حاضر با آن همخوانی نداشت. البته آنها صرفاً از مکمل استفاده کرده‌اند و همراه فعالیت ورزشی نبوده است و استدلال کرده‌اند که تحریک گیرنده آدنوزین، رگ‌زایی را افزایش می‌دهد و از آنجایی که کافئین، آگونیست گیرنده آدنوزین است، بنابراین سبب کاهش رگ‌زایی شده است [26].

سازوکارهای مرتبط با اثر کافئین بر افزایش VEGF نامشخص بوده است [13, 15]، ولیکن رهایش سیتوکین‌های پیش‌التهابی به‌ویژه عامل نکروز توموری آلفا (TNF- $\alpha$ )، اینترلوکین-1 (IL-1) و اینترلوکین-6 (IL-6)، حین و پس از ورزش‌های برون‌گرا و غیرموسوم، یک واکنش التهابی را ایجاد می‌کند [7, 8]. کافئین از تولید TNF- $\alpha$  جلوگیری می‌کند و به نظر می‌رسد با بلوک‌کردن گیرنده‌های آدنوزینی و مهار آنزیم فسفودی‌استراز (آنزیم تجزیه‌کننده آدنوزین‌مونوفسفات حلقوی)، باعث افزایش غلظت آدنوزین‌مونوفسفات حلقوی (به‌عنوان مهم‌ترین پیامبر ثانویه درون سلولی که با بسیاری از اعمال سلول در ارتباط است) می‌شود. افزایش آدنوزین‌مونوفسفات حلقوی نیز باعث کاهش تولید سیتوکین‌ها به‌ویژه TNF- $\alpha$  و همچنین، یون سوپراکسید می‌شود [27]. همچنین، کافئین باعث تنظیم منفی بیان ژن TNF- $\alpha$  در برخی از سلول‌های بدن می‌شود [25].

از طرف دیگر، مطالعات اخیر نشان داده است که جنیستئین ممکن است عملکرد عروقی را بهبود بخشد [15]. در این راستا جلیلی و همکاران نشان داده‌اند که مصرف جنیستئین در موش‌ها با افزایش در تولید NO همراه بوده است [28]. جنیستئین از طریق مسیر cAMP/PKA، سبب افزایش تولید NOS و NO از مسیرهای غیرژنومی می‌شود [16]. c-AMP مولکول مرکزی بسیاری از مسیرهای پیام‌رسانی است و نقش مهمی در نگهداری عملکرد عروقی طبیعی دارد. فعالیت مسیر cAMP/PKA سبب فسفوریلاسیون نیتریک‌اکساید اندوتلیالی می‌شود که منجر به فعالیت آن و در نتیجه تولید NO می‌شود [17]. به‌علاوه فعال شدن مسیر cAMP/PKA، سبب مهار التهاب عروقی با سرکوب چسبندگی لکوسیت‌ها به سلول‌های اندوتلیال نیز می‌شود [15]. سازوکار تاثیر فعالیت بدنی و مکمل، بر تغییرات سطوح این فاکتور به‌طور واضح مشخص نیست، ولی چنانچه ذکر شد از مسیرهای متفاوتی از جمله تغییرات همودینامیک و متابولیک، می‌توانند سبب بروز تغییرات مثبت شوند. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، فعالیت بدنی به‌همراه مصرف مکمل کافئین و جنیستئین، می‌تواند با افزایش سطوح قلبی فاکتورهای نظیر NO و VEGF، سبب بهبود عملکرد قلب شود که به نظر می‌رسد فعالیت بدنی، عامل موثر قوی‌تری نسبت به مکمل کافئین و جنیستئین است. در نتیجه فعالیت بدنی و مصرف مکمل مفید توصیه می‌شود.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم یکسان بودن واکنش موش‌های صحرایی به مکمل‌های کافئین و جنیستئین و عدم تزیق در تمامی گروه‌ها به‌منظور حذف اثر سوزن اشاره نمود. براساس یافته‌های این پژوهش پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده به بررسی اثرات مکمل‌های کافئین و جنیستئین با دوزهای مختلف و تمرین استقامتی با مدت‌های مختلف پرداخته شود. همچنین با توجه به اینکه داروهای گیاهی مختلف می‌توانند اثرات متفاوتی در بهبود رگ‌زایی ناشی از تمرین داشته باشند، پیشنهاد می‌شود در

- of five weeks' resistance training on some vascular growth factors in sedentary men. *Sport Physiol.* 2016;8(29):15-30. [Persian]
- 20- Graham DA, Rush JW. Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric oxide bioavailability in spontaneously hypertensive rats. *J Appl Physiol* (1985). 2004;96(6):2088-96.
- 21- Gavin TP, Drew JL, Kubik CJ, Pofahl WE, Hickner RC. Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression. *Acta Physiol (Oxf)*. 2007;191(2):139-46.
- 22- Wang WQ, Lu CF, Jiang WK, Pan JF. Effects of acute exercise training and hypoxia on vascular endothelial cell growth factor expression in rat gastrocnemius muscles. *J Clin Rehabil Tissue Eng Res.* 2009;13(50):9874-8.
- 23- Ranjbar K, Nourshahi M, Gholamali M. The effect of acute sub-maximal endurance exercise on serum angiogenic indices in sedentary men. *Zahedan J Res Med Sci.* 2014;16(6):58-63. [Persian]
- 24- Czarkowska-Paczek B, Bartłomiejczyk I, Przybylski J. The serum levels of growth factors: PDGF, TGF-beta and VEGF are increased after strenuous physical exercise. *J Physiol Pharmacol.* 2006;57(2):189-97.
- 25- Kraus RM, Stallings HW 3rd, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *J Appl Physiol* (1985). 2004;96(4):1445-50.
- 26- Li H, Jin SY, Son HJ, Seo JH, Jeong GB. Caffeine-induced endothelial cell death and the inhibition of angiogenesis. *Anat Cell Biol.* 2013;46(1):57-67.
- 27- Viboolvorakul S, Patumraj S. Exercise training could improve age-related changes in cerebral blood flow and capillary vascularity through the upregulation of VEGF and eNOS. *Biomed Res Int.* 2014;2014:230791.
- 28- Jalili C, Ahmadi S, Roshankhah S, Salahshoor M. Effect of Genistein on reproductive parameter and serum nitric oxide levels in morphine-treated mice. *Int J Reprod Biomed (Yazd)*. 2016;14(2):95-102.
- acute exercise and exercise training on VEGF splice variants in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004;287(2):R397-402.
- 10- Gu JW, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. *BMC Physiol.* 2004;4:2.
- 11- Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartłomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J. The influence of physical exercise on the generation of TGF- $\beta$ 1, PDGF-AA, and VEGF-A in adipose tissue. *Eur J Appl Physiol.* 2011;111(5):875-81.
- 12- Jafari A, Nik-Kherad J, Maleki-rad AA. Effect of short-term caffeine supplementation on downhill running induced inflammatory response in non-athletes male. *J Cell Tissue.* 2012;2(4):377-85. [Persian]
- 13- Yukawa GS, Mune M, Otani H, Tone Y, Liang XM, Iwahashi H, et al. Effects of coffee consumption on oxidative susceptibility of low-density lipoproteins and serum lipid levels in humans. *Biochemistry (Mosc)*. 2004;69(1):70-4.
- 14- Damirchi A, Rahmani-nia F, Mirzaei B, Hasan-Nia S, Ebrahimi M. Effect of caffeine on blood pressure during exercise and at rest in overweight men. *Iran J Endocr*
- 15- McClaran SR, Wetter TJ. Low doses of caffeine reduce heart rate during submaximal cycle ergometry. *J Int Soc Sports Nutr.* 2007;4:11.
- 16- Liu D, Jiang H, Grange RW. Genistein activates the 3',5'-cyclic adenosine monophosphate signaling pathway in vascular endothelial cells and protects endothelial barrier function. *Endocrinology.* 2005;146(3):1312-20.
- 17- Liu D, Homan LL, Dillon JS. Genistein acutely stimulates nitric oxide synthesis in vascular endothelial cells by a cyclic adenosine 5'-monophosphate-dependent mechanism. *Endocrinology.* 2004;145(12):5532-9.
- 18- Poulaki V, Jousen AM, Mitsiades N, Mitsiades CS, Iliaki EF, Adamis AP. Insulin-like growth factor-I plays a pathogenetic role in diabetic retinopathy. *Am J Pathol.* 2004;165(2):457-69.
- 19- Mehri Alvar Y, Sayevand Z, Erfani Adab F, Heydari Moghadam R, Samavat Sharif MA, Karami S. The effects