

VEGF and HIF- α 1 changes in heart tissue of aged female rats after eight weeks of intense intermittent exercise and genistein consumption

Bagher Soheili¹, Seyed Ali Hosseini^{1*2}, Ahmad Hematfar³

1. Ph.D student in Department of Sports Physiology, Bo.C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran
2. Professor in Department of Sport Physiology, Marv.C., Islamic Azad University, Marvdasht, Iran
3. Assistant Professor, Department of Sports Physiology, Bo.C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran

Received: 16 November 2024; Accepted: 07 January 2025, Published: 21 December 2025

Abstract

Introduction: Although the role of exercise and antioxidants in improving cardiac function has been reported. But their simultaneous effect is still not well known. Therefore, the present study was conducted with the aim of VEGF and HIF- α 1 changes in the heart tissue of elderly female rats after eight weeks of intense intermittent exercise and genistein consumption.

Methods: In this experimental study, 30 female Sprague-Dawley rats aged 18-24 months divided into five groups including (1) HIIT, (2) genistein, (3) HIIT with genistein, (4) healthy control and (5) sham. During 8 weeks, groups 2 and 3 received 60 mg/kg genistein dissolved in DMSO daily, and group 5 received 60 mg/kg DMSO intraperitoneally. Groups 1 and 3 ran on the treadmill 3 times a week. To analyze the findings, statistical tests of one-way analysis of variance with Tukey's post hoc test were used ($P < 0.05$).

Results: The expression of cardiac VEGF and HIF-1 α increased in the intense interval training group compared to the control group ($P < 0.05$). Also, in the exercise + genistein group, VEGF values were significantly higher than the control group ($P < 0.05$). In addition, in the exercise group, the values of cardiac VEGF and HIF-1 α were significantly higher than those of the exercise + genistein group ($P < 0.05$).

Conclusion: It seems that intense intermittent exercise has angiogenic effects, but genistein with the dose of the present study leads to the modulation of angiogenesis caused by exercise.

Keywords: Exercise Training, Genistein, Angiogenesis, Heart, Aging

¹. Corresponding author

Seyed Ali Hosseini

Address: Professor in Department of Sport Physiology, Marv.C., Islamic Azad University, Marvdasht, Iran

Phone: 00989173027100

Email: alihoseini_57@iau.ac.ir

تغییرات VEGF و HIF- $\alpha 1$ در بافت قلب موش های صحرائی ماده سالمند پس از هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف جنستئین

باقر سهیلی، سید علی حسینی^{۱*}، محمود همت فر

دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزش، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۲۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۵، تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۹/۳۰

چکیده

مقدمه: اگرچه نقش مثبت تمرین و آنتی‌اکسیدان‌ها بر بهبود عملکرد قلب گزارش شده است. اما اثر همزمان آنها هنوز به خوبی شناخته نشده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف تغییرات VEGF و HIF- $\alpha 1$ در بافت قلب موش‌های صحرائی ماده سالمند به دنبال هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف جنستئین انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرائی ماده ۱۸-۲۴ ماهه نژاد اسپراگ‌داولی انتخاب و به گروه‌های (۱) HIIT، (۲) جنستئین، (۳) HIIT+مصرف جنستئین، (۴) کنترل سالم و (۵) شم تقسیم شدند. در مدت ۸ هفته گروه‌های ۲ و ۳ روزانه ۶۰ mg/kg جنستئین حل شده در DMSO و همچنین گروه ۵ روزانه ۶۰ mg/kg DMSO به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه‌های ۱ و ۳ به میزان ۳ جلسه در هفته روی نوارگردان دویدند. جهت تجزیه و تحلیل یافته‌ها از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه همراه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد ($P < 0.05$).

نتایج: بیان VEGF و HIF-1 α قلبی در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل افزایش یافت ($P < 0.05$). همچنین در گروه HIIT+جنستئین مقادیر VEGF بیشتر از گروه کنترل بود ($P < 0.05$). همچنین در گروه HIIT مقادیر VEGF و HIF-1 α قلبی بیشتر از گروه ترکیب تمرین + جنستئین بود ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید دارای اثرات آنژیوپروتیک است اما جنستئین با دوز مطالعه حاضر منجر به کاهش عملکرد آنژیوپوتنشن ناشی از ورزش می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تمرین، جنستئین، آنژیوپوتنشن، قلب، سالمندی

^۱ نویسنده مسوول

سید علی حسینی

نشانی: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

تلفن: ۰۹۱۷۳۰۲۷۱۰۰

ایمیل: alihoseini_57@iau.ac.ir

مقدمه

سالمندی بخشی از زندگی است که با تغییرات جسمی و روحی همراه است. به گونه ای که هنگام سالمندی همزمان با پیر شدن سلول ها ناتوانی در ارگان های بدن از جمله مغز، قلب، کبد و ... اتفاق می افتد (1). مطالعات نشان می دهند که با افزایش سن جمعیت جهان روبرو هستیم به گونه ای که پیش بینی می شود تا سال ۲۰۵۰ جمعیت سالمندان جهان دو برابر شود. به عبارتی سالمندی همزمان با ابتلا به بیماری های دیابت، بیماری های قلبی عروقی علت اصلی مرگ و میر سالمندان می باشد (2). علاوه بر این اطلاعات نشان می دهند که مرگ و میر به دلیل ابتلا به بیماری های قلبی در زنان ۳۵ درصد از کل مرگ و میر ها می باشد (3). بررسی ها نشان می دهند که با افزایش سن، اختلال در شاخص های متابولیکی، قند، انسولین و همچنین تغییر در پروفایل لیپیدی و عملکرد میتوکندری سلول ها ضعیف می شوند و این امر در بافت قلب و عروق منجر به فیبروز شدن رگ ها، میوکارد، افزایش استرس اکسیداتیو و نقص فرآیند رگزایی می گردد (2,4). علاوه بر این اطلاعات نشان می دهد که با افزایش سن، مکانیسم های مرتبط با رگزایی از جمله عامل القا هایپوکسی ها^۱ (HIFs) مانند HIF-1 α ، HIF-2 α و HIF-3 α که در کمبود اکسیژن منجر به رونویسی از عامل رشد اندوتلیال عروق^۲ (VEGF) می شود؛ کاهش می باید. بنابراین نظریه ذکر شده عاملی برای اختلالات عروقی در سالمندی شناخته می شود (5).

از سویی امروزه استفاده از راهکار هایی که به پیشگیری از ابتلا به بیماری های قلبی-عروقی منجر می شود از مسائل اصلی سازمان های بهداشتی است. از این رو یکی از روش های مطلوب انجام فعالیت های بدنی منظم است (6). مطالعات نشان می دهند که انجام فعالیت های ورزشی می تواند عملکرد جسمانی را در شرایط سالمندی بهبود بخشد و این امر به بهبود کیفیت زندگی آنها منجر می شود (1). اعتقاد بر این است که انجام فعالیت های ورزشی منظم می تواند منجر به افزایش مصرف انرژی، افزایش بیوژنز میتوکندریایی، بهبود عملکرد عضلات اسکلتی و عضلات صاف می گردد (6). اعتقاد بر این است که فعالیت های ورزشی با افزایش گونه های فعال اکسیژن^۳ (ROS) می توانند منجر به فعال سازی HIF-1 α شوند و این امر منجر به فعال سازی فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز^۴ (PI3K)/پروتئین کیناز شود و این مسیر سیگنالی به فعال سازی VEGF منجر می شود. در نتیجه انجام فعالیت های ورزشی می تواند به افزایش آنژیوژنز در بافت قلب منجر شود (7). در این زمینه محققین نشان دادند که تمرین تناوبی و تناوبی هر دو موجب افزایش بیان پروتئین های آنژیوژنیک مانند VEGF⁵، TGF⁶ و MMP⁷ گردید (8). اما در مطالعه ای نتایج اگرچه افزایش قطر عروق را متعاقب تمرین استقامتی نشان داد اما تغییر معنی داری در VEGF قلبی موش های صحرائی نر سالم مشاهده نشد (9).

علاوه بر توصیه فعالیت های بدنی، اعتقاد بر این است که رژیم غذایی مناسب از مهمترین عوامل تاثیر گذار بر سالمندی و سلامت قلب و عروق است. بنابراین استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی می تواند نقش مطلوبی بر سلامت جسمی و ذهنی در شرایط سالمندی داشته باشد. یکی از این آنتی اکسیدان ها جنستئین (Ge) است. جنستئین ماده اصلی تشکیل دهنده سویا می باشد که

1 Hypoxia inducible factors
2 vascular endothelial growth factor
3 Reactive Oxygen Species
4 Phosphatidyle Inositol 3 kinase
5 Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF
6 Transforming growth factor
7 Matrix Metalloproteinase; MMP

گزارش هایی مبنی بر اثرات بهبود دهنده گلوکز، انسولین و بهبود متابولیسم چربی ها دارد (10). این ایزوفلاون به دلیل دارا بودن خاصیت ضد التهابی، خاصیت آنتی اکسیدانی، فعال سازی مسیر رونویسی از آنتی اکسیدان ها می تواند در بهبود بیولوژی سلول های قلبی موثر باشد (11). به گونه ای که در مطالعات پیشین اشاره شد مصرف جنسستین می تواند منجر به کاهش $TNF-\alpha$ سرمی در موش های صحرایی مبتلا به دیابت گردد (11). همچنین در مطالعه ای نتایج نشان داد مصرف جنسستین منجر به بهبود نیمرخ چربی موش های صحرایی مبتلا به دیابت گردید (4). در همین مطالعات تاثیر مطلوب تمرینات ورزشی و جنسستین بر نیمرخ چربی، عوامل التهابی نیز گزارش شده بود (4,11). اما با توجه به محدودیت اطلاعات در ارتباط با اثر همزمان این دو مداخله (تمرین تناوبی شدید و جنسستین) بر عوامل رگزایی به نظر می رسد انجام مطالعات بنیادی بتواند اطلاعات بیشتری در این زمینه به محققین ارائه نماید. از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات VEGF و $HIF-\alpha 1$ در بافت قلب موش های صحرایی ماده سالمند به دنبال هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف جنسستین انجام شد.

روش ها

جمع آوری و شرایط نگهداری در آزمایشگاه

این مطالعه یک مطالعه تجربی و از نوع مطالعات بنیادی بود که با طرح پس آزمون همراه با گروه کنترل انجام شد. بدین منظور تعداد ۳۰ سر موش صحرایی ماده ۱۸ تا ۲۴ ماهه نژاد اسپراگ داوولی با دامنه وزنی 20 ± 280 تهیه و به محل آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت منتقل شد. این نکته قابل ذکر است که در دوره تحقیق موش های صحرایی در شرایط استاندارد نگهداری شدند. این شرایط شامل دما (۲۲-۲۴ درجه سانتی گراد)، رطوبت نسبی ۵۵ درصد، چرخه تاریکی به روشنایی (۱۲ به ۱۲ ساعت)، در قفس های پلی کربنات با قابلیت شست و شو بود. همچنین اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این تحقیق بر اساس معاهده هلسینکی و تحت نظر کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز با کد اخلاق مصوب IR.SUMS.REC.1399.409 انجام شد.

گروه بندی

در ادامه موش های صحرایی به پنج گروه ۶ سری شامل (۱) HIIT (۲) جنسستین، (۳) HIIT همراه با مصرف جنسستین، (۴) کنترل و (۵) شم تقسیم شدند. در طی پروتکل تحقیق موش های صحرایی در گروه های مصرف جنسستین روزانه ۱۸۰ میلیگرم جنسستین با ۱/۹۵ میلیلیتر DMSO و ۳/۶ میلیلیتر نرمال سالین حل شده به ۱۲ موش در گروه های $G+HIIT$ به صورت تصاقی تزریق گردید. همچنین گروه Sham روزانه تنها DMSO حل شده در نرمال سالین با حجم برابر با بقیه گروه ها تزریق شد. بدین صورت روزانه mg/kg 60 جنسستین به موش ها بصورت تصاقی تزریق گردید همچنین برای کنترل اثر حلال جنسستین (DMSO) گروه شم در طول تحقیق صرفاً DMSO حل شده در نرمال سالین را دریافت کردند. گروه های تمرین نیز به مدت هشت هفته تمرینات تناوبی شدید را انجام دادند.

پروتکل تمرین HIIT

برای تعیین شدت دویدن حداکثر سرعت دویدن موش های صحرایی، ابتدا موش های صحرایی به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه گرم می کردند. در ادامه به ازای هر یک دقیقه یک متر بر دقیقه به سرعت نوار گردان اضافه شد تا جایی که موش های صحرایی دیگر قادر به دویدن نباشند. به عبارتی در آن جلسه تمرین وامانده ساز انجام شد. واماندگی در این پژوهش به حالتی اطلاق گردید که موش های صحرایی به دلیل خستگی ناشی از دویدن دیگر قادر به دویدن نباشند و در فاصله کمتر از یک دقیقه

سه بار متوالی به انتهای نوارگردان برخورد نمایند (12-14). در ادامه جهت سازگاری با HIIT، موش های صحرائی به مدت ۲ هفته با سرعت ۳۰ - ۱۰ m/min با شیب صفر درجه بر روی نوارگردان ویژه موش های صحرائی تمرین کردند. در ادامه گروه های ۱ و ۳ به مدت ۸ هفته تمرینات اصلی را برای سه روز در هفته انجام دادند. تمرینات اصلی بدین صورت بود که بر اساس حداکثر سرعت دویدن (که بر اساس مطالعات برابر با حداکثر اکسیژن مصرفی بود) در ابتدای هر هفته، موش های صحرائی در ۹ تناوب یک دقیقه ای با شدت بالا معادل ۹۰ تا ۹۵ درصد VO_{2max} می دویدند و فاصله های استراحت فعال بین آنها را یک دقیقه دویدن بین هر تناوب با شدت ۵۰ درصد شدت دویدن انجام می دادند. این نکته قابل ذکر است که در ابتدا و انتهای برنامه تمرین ۴ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با شدت ۴۵ تا ۵۵ درصد VO_{2max} به زمان تمرینات اصلی تمرین افزوده می شد (14).

تهیه و مصرف جنسستئین

ابتدا جنسستئین از شرکت سیگما آلدریج با کد اقتصادی CAS NO: 446-72-0 and BACH NO: 20150605 تهیه شد. در ادامه روزانه ۱۸۰ میلی گرم جنسستئین با ۱/۹۵ میلی لیتر DOMS و ۳/۶ میلی لیتر نرمال سالین حل شد و به ۱۲ موش در گروه های G و HIIT+G به صورت صفاقی تزریق گردید. همچنین گروه Sham روزانه تنها DMSO حل شده در نرمال سالین با حجمی برابر با بقیه گروه ها تزریق شد. بدین صورت روزانه ۶۰ mg/kg جنسستئین به موش های صحرائی تزریق می گردید (15).

تشریح و نمونه برداری

در پایان ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و مصرف جنسستئین موش های صحرائی به وسیله کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلوزین (۲۰ mg/kg) بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی کامل موش های صحرائی ابتدا حفره سینه ای توسط تیغ و قیچی جراحی شکافته شد. در ادامه پس از روئیت بافت قلب بافت های اضافه کنار زده شد و بافت قلب به دقت توسط متخصص آزمایشگاه خارج شد. بافت قلب بلافاصله پس از توزین و شست و شو در میکروتیوپ ویژه نگهداری بافت قرار داده شد سپس به دمای ۷۰- منتقل شد تا در اولین فرصت متغیرها از درون آن اندازه گیری شود.

روش اندازه گیری متغیرها

جهت اندازه گیری متغیرها ابتدا بافت قلب در بافر فسفات سالین هموزنیزه گردید، در ادامه مقدار ۵۰ میلی گرم بافت جدا شد، در اولین مرحله استخراج RNA بر اساس پروتکل شرکت سازنده (کیژن، آلمان) انجام شد. این نکته قابل ذکر است که برای اطمینان از کیفیت RNA از ژل آگارز الکتروفورز و با استفاده از خاصیت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه پیکو دراپ شرکت سیگما (ساخت آمریکا) و فرمول $(C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A_{260} \times \epsilon \times d/1000)$ استفاده شد. پس از تایید غلظت مورد نظر نمونه ها برای مراحل بعدی نگهداری شدند. در ادامه پس از سنتز cDNA با استفاده از پروتکل شرکت سازنده در کیت فرمنتاز (K1621) و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) از بر اساس راهنمای ژن های در سایت PUBMED واکنش رونویسی معکوس انجام شد. برای تعیین کارایی و اختصاصی بودن پرایمرها از پیش پرایمرها با استفاده از نرم افزار موجود در سایت NCBI ارزیابی گردید. پس از اطمینان از اتمام کار دستگاه qReal Time PCR و پس از رسیدن نمونه ها به آستانه بیان (Cycle Threshold) جهت کمی سازی نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد.

جدول ۱-۳ توالی پرایمرهای تحقیق

Genes	Primer Sequences	Sizes(bp)
VEGF	Forward: 5'- CTGCAGAGGATGATTGCTGA -3' Reverse: 5'-GATCAGCTCGGGCACTTTAG-3'	174

HIF-1alpha	Forward: 5'-ATCGCTCTGTGGATGACTGAGTAC-3'	134
	Reverse: 5'-AGAGACAGCCAGGAGAAATCAAAC-3'	
TBP	Forward: 5'-GCGGGGTCATGAAATCCAGT-3'	147
	Reverse: 5'-AGTGATGTGGGGACAAAACGA-3'	

روش تجزیه و تحلیل داده ها

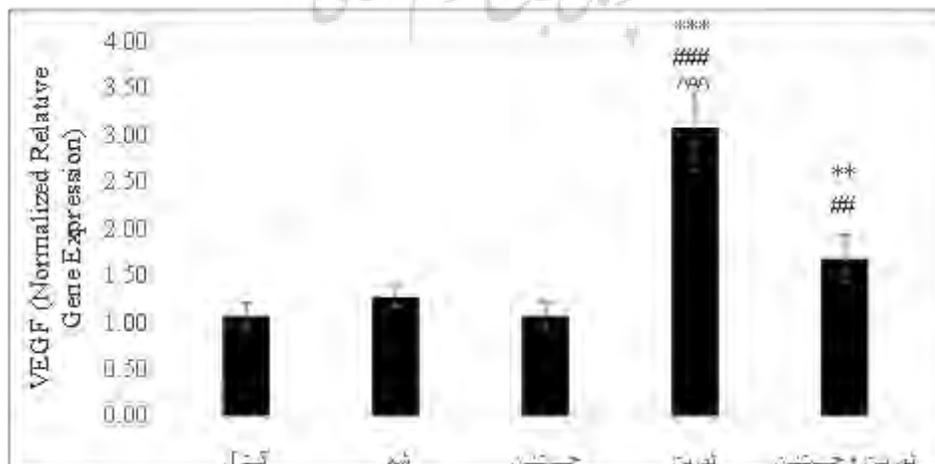
ابتدا برای بررسی نحوه توزیع داده ها از آزمون آماری شاپیروویلیک استفاده شد، با توجه به نرمال بودن توزیع داده ها برای بررسی اثر حلال جنسستین بین گروه C و Sh از آزمون t مستقل استفاده شد و در ادامه برای بررسی تفاوت بین گروهی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. همچنین برای بررسی محل تفاوت بین گروه ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. داده های تحقیق حاضر در نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند. همچنین سطح معنی داری برای تجزیه و تحلیل ها ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی داری در مقادیر VEGF ($P = 0.001$ و $F = 49.33$) و HIF- 1α ($P = 0.001$ و $F = 76.13$) وجود دارد.

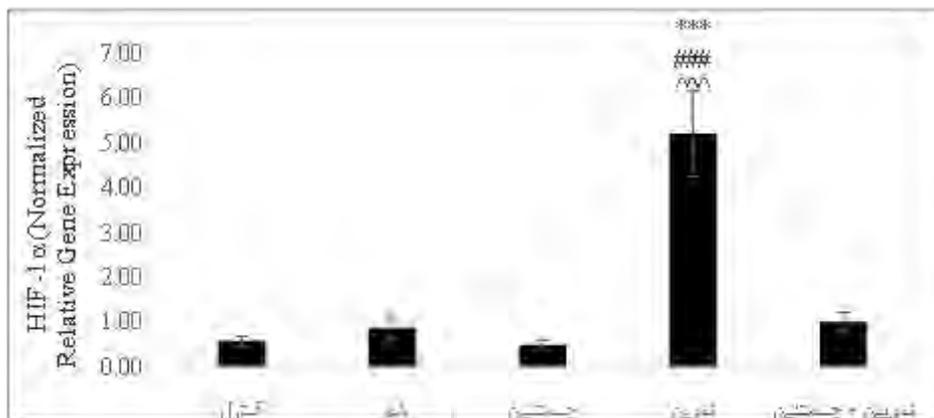
در ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تفاوت معنی داری در مقادیر بیان ژنی VEGF در گروه های شم ($P = 0.77$) و جنسستین ($P = 0.99$) وجود ندارد، اما در گروه تمرین ($P = 0.009$) و تمرین + جنسستین ($P = 0.001$) مقادیر VEGF به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود. همچنین در گروه های تمرین ($P = 0.003$) و تمرین + جنسستین ($P = 0.001$) به طور معنی داری بیشتر از گروه جنسستین بود. علاوه بر این در گروه تمرین به طور معنی داری بیشتر از گروه تمرین + جنسستین بود ($P = 0.001$) (نمودار ۱).

همچنین نتایج نشان داد تفاوت معنی داری در مقادیر بیان ژنی HIF- 1α در گروه های شم ($P = 0.88$)، جنسستین ($P = 0.99$) و تمرین + جنسستین ($P = 0.69$) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد. در حالی که در گروه تمرین به طور معنی داری بیشتر از گروه های کنترل ($P = 0.001$) و جنسستین ($P = 0.001$) بود (نمودار ۲).



نمودار ۱. مقادیر بیان ژنی VEGF در بافت قلب موش های صحرائی در گروه های پنجگانه

*** (P=۰/۰۰۱) و ** (P=۰/۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل؛
 ### (P=۰/۰۰۱) و ## (P=۰/۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه جنسستین؛
 ^^^ (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه تمرین + جنسستین



نمودار ۲. مقادیر بیان ژنی HIF-1 α در بافت قلب موش های صحرائی در گروه های پنجگانه

*** (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل؛
 ### (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه تمرین؛
 ^^^ (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه تمرین + جنسستین

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیان VEGF و HIF-1 α قلبی در گروه تمرین تناوبی شدید نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. اطلاعات نشان می دهند که ورزش می تواند با مکانیسم کاهش سطح اکسیژن درون سلولی به کاهش فعالیت PHDs منجر شود و این اتفاق پروتئین انتقال هسته ای HIF-1 α را به درون هسته منتقل می کند. به عبارتی HIF-1 α با انتقال به هسته و اتصال به پروموتور ژن های رگزایی منجر به رونویسی از عوامل رگزایی مانند VEGF می شود. به عبارتی ورزش می تواند منجر به فعال سازی پروتئین کالمودولین کیناز وابسته به کلسیم و کلسی نورین شود؛ این دو پروتئین منجر به فعال سازی PI3K/Akt می شود و سپس عامل رونویسی پروکسی زوم گاما^۱ (PPAR δ) فعال می شود. در ادامه این پروتئین ها به انتقال HIF-1 α کمک می کنند و در هسته عامل آنژیوژنز VEGF بیان می شود (16). همسو با مطالعه حاضر در مطالعه ای نتایج نشان داد تمرین تناوبی با شدت متوسط به مدت هشت هفته منجر به افزایش VEGF و HIF-1 α در بافت قلب موش های صحرائی مبتلا به انفارکتوس میوکارد گردید (16). همچنین در مطالعه ای نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین ترکیبی موجب افزایش بیان HIF1, VEGF و UCP1 در مردان سالمند گردید (17). در مطالعه ای دیگر نیز محققین نشان دادند که تمرین هشت هفته ای می تواند منجر به افزایش VEGF و HIF-1 α در بافت هیپوکامپ موش های صحرائی نر سالم گردد (18). این در حالی بود که در یک مطالعه چهار هفته تمرین اثر معنی داری بر بیان VEGF در بافت قلب موش های صحرائی مبتلا به انفارکتوس میوکارد نداشت (19). همچنین در مطالعه ای دیگر نتایج نشان داد که چهار هفته تمرین مقاومی اثر معنی داری بر بیان VEGF و VEGFR1 در موش

های صحرایی نر سالم نداشت (20). به نظر می رسد طول دوره تمرین، نوع تمرین و شدت تمرین از عواملی هستند که می توانند منجر به سازگاری های مناسب در رگزایی موثر باشند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد تفاوت معنی داری در مقادیر بیان ژنی VEGF و HIF-1 α قلبی در گروه جنسستین و کنترل وجود ندارد. همانگونه که در مطالعه قبلی ما ذکر گردید جنسستین به دلیل دارا بودن ایزوفلاوان ها می تواند منجر به حذف رادیکال های آزاد شود؛ همچنین از طریق فعال سازی مسیر cAMP/PKA منجر به فعال سازی عامل رونویسی هسته ای متصل به اریتروئید ۲ شود. این پروتئین به هسته منتقل شده و در آنجا ژن های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را رونویسی می کند (21). اما با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می رسد استفاده از برخی آنتی اکسیدان ها می تواند منجر به ورود بیش از حد آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی به درون سلول شود و نتیجه این امر حذف گونه های فعال اکسیژن است. همانطور که محققین نشان داده اند فعال سازی برخی از مسیر های سلولی مولکولی با سیگنال دهی ROS ها انجام می شود و در نتیجه با استفاده از آنتی اکسیدان ها در دوز های متوسط رو به بالا در شرایط غیر بیماری مسیر های هموستازی سلول متوقف می شوند (22). بنابراین به نظر می رسد استفاده از آنتی اکسیدان ها می تواند منجر به پاکسازی ROS ها شود؛ این امر به مهار نیتریک اکسید سنتتاز اندوتلیالی منجر می شود و مسیر های عامل القا هایپوکسی به درون هسته و رونویسی از VEGF را متوقف می نماید (23). اگرچه در مطالعه حاضر از یک دوز ایمن برای بررسی اثرات مطلوب استفاده گردید؛ اما مطالعات نشان می دهند که جنسستین به دلیل دارا بودن خواص شبه استروژنی می تواند مسیر های منتهی به گیرنده استروژن، سنتز پروتئین های ساختاری، فعال سازی پروتئین های آنابولیکی منجر شود و علاوه بر افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی می تواند منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شود. البته در مطالعه ی Sigh و همکاران دوز های بسیار بالاتر مانند ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفته بود (24). از این رو به نظر می رسد اگرچه در این مطالعه جنسستین اثرات سمی نداشته است، اما اثر مطلوبی نیز بر افزایش بیان ژن های آنژیوژنیک در بافت قلب نیز نداشته است.

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد در گروه تمرین + جنسستین مقادیر VEGF به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود. علاوه بر این در گروه تمرین تناوبی شدید مقادیر VEGF و HIF-1 α قلبی به طور معنی داری بیشتر از گروه ترکیب تمرین + جنسستین بود. تحقیقاتی در ارتباط با تاثیر همزمان تمرین و جنسستین انجام شده است، به گونه ای که در مطالعات قبلی تمرین تناوبی شدید و جنسستین منجر به بهبود شاخص های متابولیکی استخوان در موش های صحرایی سالمند گردید (25). همچنین در مطالعه ای تعامل تمرین و جنسستین منجر به کاهش نشانگر های آپوپتوزی و بهبود عملکرد میتوکندریایی در بافت قلب موش های صحرایی سالمند گردید (2). در مطالعه ای دیگر تمرین استقامتی با شدت متوسط و جنسستین موجب کاهش TNF- α و افزایش BDNF سرمی در موش های صحرایی مبتلا به دیابت گردید (11). همچنین در یک مطالعه نیز تمرین مقاومتی و جنسستین منجر به بهبود نیمرخ چربی و بهبود لپتین سرم در موش های صحرایی مبتلا به دیابت گردید (26). اما همانگونه که ذکر گردید استفاده از آنتی اکسیدان ها در کنار فعالیت های ورزشی می توانند اثرات متفاوتی داشته باشند؛ به گونه ای که در مطالعه ای بیان شد که در هنگام فعالیت های ورزشی استفاده از برخی آنتی اکسیدان ها می توانند مسیر سیگنالی مرتبط با بیوژنز میتوکندری، هایپرتروفی و رگزایی را متوقف نمایند (27). در تایید این نظریه مطالعه قبلی ما نیز نشان داد که تمرین تناوبی و جنسستین اثر تعاملی بر افزایش آنتی اکسیدان ها نداشت و حتی تا حدودی MDA را افزایش داد. با توجه به اهمیت نیتریک اکسید سنتتاز اندوتلیالی و عامل رشد اندوتلیال در فرایند رگزایی، به نظر می رسد عدم ارزیابی آنها از محدودیت های مطالعه حاضر باشد. بنابراین پیشنهاد می گردد در مطالعات آتی این پروتئین ها نیز ارزیابی شوند. همچنین با توجه به تاثیر دوز های متفاوت

جنسستین بر مسیر های سلولی مولکولی یکی دیگر از محدودیت های تحقیق حاضر عدم ارزیابی دوز های متفاوت جنسستین بر مسیر های رگزایی بود. بنابراین پیشنهاد می گردد در مطالعات آتی در کنار تمرینات ورزشی دوز های متفاوت جنسستین نیز مورد ارزیابی قرار گیرند.

نتیجه گیری

به نظر می رسد تمرین تناوبی شدید دارای اثرات آنژیوژنیک است اما جنسستین با دوز مطالعه حاضر منجر به کاهش عملکرد آنژیوژنز ناشی از ورزش می شود.

تشکر و قدردانی

محققان این مقاله از تمامی افرادی که در اجرای این پژوهش به ما یاری رساندند، نهایت سپاسگزاری را به عمل می آورند.

حامی مالی

این مقاله حامی مالی ندارد.

تعارض منافع

در این مقاله، هیچ گونه تعارض منافی برای نویسندگان وجود ندارد.

منابع

1. Hosseini SA, Salehi O, Keikhosravi F, Hassanpour G, Ardakani HD, Farkhaie F, et al. Mental health benefits of exercise and genistein in elderly rats. *Exp Aging Res.* 2022;48(1):42–57. doi: 10.1080/0361073X.2021.1918473
2. Alizadeh R, Salehi O, Rezaeinezhad N, Hosseini SA. The effect of high intensity interval training with genistein supplementation on mitochondrial function in the heart tissue of elderly rats. *Exp Gerontol.* 2023;171:112039 doi: 10.1016/j.exger.2022.112039..
3. Vervoort D, Wang R, Li G, Filbey L, Maduka O, Brewer LC, et al. Addressing the Global Burden of Cardiovascular Disease in Women: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2024;83(25):2690–707. doi: 10.1016/j.jacc.2024.04.028.
4. Hashemi HS, Hosseini SA. The effect of moderate intensity endurance training and lipid lowering genistein in Streptozotocin induced diabetic rats. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2017;19(1):10–23.
5. He Y, Munday JS, Perrott M, Wang G, Liu X. Association of age with the expression of hypoxia-inducible factors HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α and VEGF in lung and heart of tibetan sheep. *Animals.* 2019;9(9):673. doi: 10.3390/ani9090673.
6. Pirani H, Bakhtiari A, Amiri B, Salehi OR. Beneficial Mitochondrial Biogenesis in Gastrocnemius Muscle Promoted by High-Intensity Interval Training in Elderly Female Rats. *Cell J.* 2023;25(1):11. doi: 10.22074/cellj.2022.557565.1078.
7. Ghahramani M, Majd ZR. The effect of physical activity on VEGF and HIF-1 signaling. *J Clin Res Paramed Sci.* 2020;9(2) :e98493. <https://doi.org/10.5812/jcrps.98493>..
8. Shahidi F, Yazdani F, Gaieni A, Karimi P. Comparison of the Effect of Eight Weeks of Moderate Continuous and Sever Interval Training on Cardiac Angiogenesis in Wistar Male Diabetic Rats. *Iran J Diabetes Metab.* 2019;18(5):236–45.
9. Tolouei Azar J, Tofighi A, Arabzadeh E. The effect of 6 weeks endurance training on FSTL-1,

- NDNF, VEGF and vascular changes in healthy male rats. *Sport Physiol.* 2019;11(41):169–86. 10.22089/spj.2018.5782.1763
10. Eftekhari MH, Honarvar NM, Rajaiefard A, Owji AA. Effect of genistein isoflavone on glucose lipid profile and paroxonase enzyme activity in diabetic rats. 2012; 9 (4) :69-76.
 11. Salehi OR, Hosseini SA, Farkhaie F, Farzanegi P, Zar A. The Effect of Moderate Intensity Endurance Training with Genistein on Brain-Derived Neurotrophic Factor and Tumor Necrosis Factor- α in Diabetic Rats. *J Nutr Fasting Heal.* 2019;7(1):44–51. 10.22038/JNFH.2019.37231.1163
 12. Li F-H, Sun L, Zhu M, Li T, Gao H-E, Wu D-S, et al. Beneficial alterations in body composition, physical performance, oxidative stress, inflammatory markers, and adipocytokines induced by long-term high-intensity interval training in an aged rat model. *Exp Gerontol.* 2018;113:150–62. doi: 10.1016/j.exger.2018.10.006.
 13. Rahmani A, Gorzi A, Ghanbari M. The effects of high intensity interval training and strenuous resistance training on hippocampal antioxidant capacity and serum levels of malondialdehyde and total antioxidant capacity in male rats. 2019; 23 (6) :47-58. 10.52547/sjku.23.6.47
 14. Taheri S, Arshadi S, Banaeifar A, Imanipour V. The Attenuating Effect of High-Intensity Interval Training and Nicotinamide Mononucleotide Supplementation on Aging-Related Oxidative Stress in Rat's Heart Tissue. *J Res Rehabil Sci.* 2020;16(1):310–20. 10.22122/JRRS.V16I0.3634
 15. Chi XX, Chu XL, Zhang T, Cao LK. Effect of genistein on the gene expressions of androgen generating key enzymes StAR, P450scc and CYP19 in rat ovary. *Pol J Vet Sci.* 2019;22(2):279–86. doi: 10.24425/pjvs.2019.129218.
 16. Haidarpour SH, Ghahremani M, Hosseini Delavar S. The Effect of Eight Weeks of Moderate-Intensity Endurance Training on the Expression of HIF-1 and VEGF Genes in the Heart Muscle of Male Rats with Myocardial Infarction. *Armaghane Danesh.* 2021;26(4):624–33. 10.52547/armaghanj.26.4.624
 17. Razavi Dehkordi SM, Keshavarz S, Banaei Borojeni J, Eftekhari E. The Effect of Eight Weeks of Combined Exercises on the Expression of HIF1, VEGF, UCP1 Genes, and the Body Composition of Overweight Elderly Men. *J Res Behav Sci.* 2024;21(4):729–40. 10.48305/21.4.729
 18. Zarezadehmehrzi A, Rajabi H, Gharakhanlou R, Naghdi N, Azimidokht SMA. Effect of 8 weeks of aerobic training on genes expression of hypoxia inducible factor HIF-1 α , vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiostatin in hippocampus of male rats with wistar model. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci.* 2020; 27 (11) :2063-2075. 10.18502/ssu.v27i11.2493
 19. Azamian Jazi A, Hafezi MR, Opera H, Abdi H. The effect of endurance exercise training and atorvastatin on VEGF in rat following experimental myocardial infarction. *J Ilam Univ Med Sci.* 2016;24(4):21–31. 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.21
 20. Shekarchizadeh P, Khazaei M, Gharakhanlou R, Karimian J, Safarzadeh AR. The Effects of Resistance Training on Plasma Angiogenic Factors in Normal Rats. *J isfahan Med Sch.* 2012;30(176).
 21. Soheili B, Hoseini SA, Hematfar A. Effect of High-intensity Interval Training and Genistein on Antioxidant Capacity in the Heart Tissue of Elderly Rats. *Yafteh.* 2023;25(2):85–93. 10.32592/Yafteh.2023.25.2.85
 22. Radomska-Leśniewska DM, Bałan BJ, Skopiński P. Angiogenesis modulation by exogenous antioxidants. *Cent Eur J Immunol.* 2017;42(4):370–6. doi: 10.5114/ceji.2017.72804.
 23. Kim Y-W, Byzova T V. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease. *Blood, J Am Soc Hematol.* 2014;123(5):625–31. doi: 10.1182/blood-2013-09-512749.
 24. Singh P, Sharma S, Kumar Rath S. Genistein induces deleterious effects during its acute exposure in Swiss mice. *Biomed Res Int.* 2014;2014(1):619617. doi: 10.1155/2014/619617.
 25. Kaikhosravi F, Daryanoosh F, Koushkie Jahromi M, Nemati J. The Effect of High Intensity Interval Training with Genistein on Biomechanical Properties of Femur Bone in Elderly Female Rats. *Jorjani Biomed J.* 2020;8(1): 9-15. 10.29252/jorjanibiomedj.8.1.51
 26. Hosseini SA, Ahmadi M, Sharifi A, Shadmehri S, Zar A. The effect of resistance training and genistein on leptin and lipid profile of streptozotocin-induced diabetic rats. *Feyz J Kashan Univ Med*

Sci. 2018;22(3):248–57.

27. Mason SA, Trewin AJ, Parker L, Wadley GD. Antioxidant supplements and endurance exercise: Current evidence and mechanistic insights. *Redox Biol.* 2020;35:101471. doi: 10.1016/j.redox.2020.101471.

