Research Paper

The Effect of Interval Training and Consuming Fenugreek Seed Extract on FGF-21 and *VEGF* Gene Expression in Patients With Coronary Artery Diseases

Ebad Roohbakhsh[1], ***Alireza Barari**[1], **Hajar Abbaszadeh**[2]

1. Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
2. Department of Sport Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Roohbakhsh E, Barari A, Abbaszadeh H. [The Effect of Interval Training and Consuming Fenugreek Seed Extract on *FGF-21* and *VEGF* Gene Expression in Patients With Coronary Artery Diseases (Persian)]. Quarterly of "The Horizon of Medical Sciences". 2021; 27(2):130-147. https://doi.org/10.32598/hms.27.2.3456.1

https://doi.org/10.32598/hms.27.2.3456.1

CC BY NC

Received: 16 Sep 2020
Accepted: 31 Oct 2020
Available Online: 01 Apr 2021

Keywords:
Interval training, Fenugreek, Fibroblast Growth Factor (FGF21), Vascular Endothelial Growth Factor (*VEGF*), Coronary artery disease

ABSTRACT

Aims A high-fat diet, smoking, and a sedentary lifestyle are the major causes of Coronary Artery Disease (CAD). This study aimed to explore the effect of interval training and the consumption of fenugreek seed extract on *FGF-21* and VEGF gene expression among patients with CAD.

Methods & Materials The present quasi-experimental study was conducted on a sample of 32 male patients with CAD, aged between 55 and 65 years. They were randomly divided into four groups: control, training only, fenugreek only, and training + fenugreek. The training program consisted of eight weeks of interval running, three sessions per week with an intensity of 55% and 65% of heart rate reserve, with a gradually increasing intensity. Subjects consumed 10 mg/kg of fenugreek extract daily. Real-time PCR was used to measure the expression of *FGF-21* and *VEGF* genes.

Findings The results showed that the mean expression ratios of FGF-21 in training only, fenugreek only, and training + fenugreek groups were significantly higher than the control group (P<0.0001). The fenugreek + training group had a greater significant increase (P<0.0001) more than the training + fenugreek group. Moreover, the mean Coefficient of Variation (CV) of *VEGF* gene expression was significantly increased more than that in the training group (P<0.0001), fenugreek group (P=0.0004), and the training + fenugreek group (P<0.0001), compared to the control group. The fenugreek + training group had a greater and more significant increase than the training only (P=0.0181) and the fenugreek only groups (P<0.0495).

Conclusion The results showed that a combination of interval training and consumption of fenugreek seed extract increased the CV of *FGF-21* and *VEGF* gene expression and thus, have beneficial effects on the angiogenesis pathway in patients with CADs.

English Version

1. Introduction

Coronary Artery Disease (CAD) has prevailed the world more than any other disease and has accounted for many disabilities and mortalities. Among the main factors contributing to this disease are a high-fat diet, smoking, and an inactive lifestyle [1]. Many financial and life-threatening costs accompany the treatment and rehabilitation of this disease. Thus, it is essential to prevent its underlying factors. Prevention of the disease is deemed possible through controlling the risk factors of cardiovascular diseases such as hypertension, blood fats (lipids), a high percentage of body lipids, and avoiding sedentary life (doing exercise) [2].

Physical training makes the body adaptive and can, thus, reduce the mortality rate of cardiovascular diseases and

* ***Corresponding Author:***
Alireza Barari, PhD.
Address: Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
Tel: +98 (911) 1277793
E-mail: alireza54.barari@gmail.com

www.SID.ir

helps improve cardiovascular functioning. One such adaptation is the angiogenesis procedure. A variety of growth factors are involved in this procedure, the most important of which are the Fibroblast Growth Factor (FGF) and the Vascular Endothelial Growth Factor (*VEGF*) [3, 4]. The latter is the most potent mitogen specific to the endothelial cells [5], known as a critical regulator of angiogenesis [4]. These vascular endothelial growth factors perform their biological function by acting on the receptor tyrosine kinases in the plasma membrane of the target cells. After linking to their ligand, these receptors turn into a dimer and are auto-phosphorylated, which finally ends in intracellular cascade events. *VEGF* is secreted in response to stimulants such as hypoxia and shear stress (the homodynamic force originating from the friction of blood flow and artery walls) from the endothelial cells [5]. Some research on the *VEGF* gene expression in human skeletal muscle showed a simultaneous increase in the *VEGF* mRNA and *VEGF* protein of muscular fibers [6]. Myllyharju et al. explored *VEGF* gene expression and observed that five training sessions managed to decrease response of the expression of Transforming Growth Factor Beta (TGF-β), FGF, and *VEGF* to one acute training session [7]. *VEGF* expression depends on a wide range of factors, including hormones, growth factors, and oxygen density. When the oxygen is lacking, Hypoxia Inducible Factors ($HIF\alpha_1$ and $HIF\alpha_2$) bind to the *VEGF-a* gene promoter and increase *VEGF*-a expression. In ischemic conditions, HIF-1a, in downstream, increases many molecules such as *VEGF* and its receptor, which in turn upregulates *VEGF* and increases its neurotrophic effect on endothelial cells and neurons following the hypoxic condition. While doing physical exercise, the acute and chronic effects of training on *VEGF* have as a potent factor in angiogenesis. A body of research showed that endurance training helped increase the factors involved in angiogenesis in different organs. Training studies showed that increasing angiogenesis occurs at a 70%-80% threshold of maximum oxygen consumed (VO_{2MAX}) in skeletal muscle. However, a high load of endurance training at a threshold of 45% of VO_{2MAX} has no effect on angiogenesis in skeletal muscle [8]. Another angiogenesis index is the Fibroblast Growth Factor (FGF). It belongs to the family of growth factors and is involved in angiogenesis, treatment of injuries, and fetal development [9]. *FGF-21* has been introduced as hepatokine/myokine/adipokine and is primarily expressed in the liver and muscles and plays a critical regulatory role in glucose and fat metabolism in humans and rodents [10]. *FGF-21* stimulates glucose uptake in adipocytes by inducing GLUT-1 and inhibits glucagon secretion by pancreas alpha cells [11]. Moreover, increased *FGF-21* turns the white adipose tissue to brown by increasing the protein level of Peroxisome Proliferator-Activated Coactivator 1 Alpha (PGC-1α) [12] and activating the AMPK/SIRT1/PGC-1α pathway, which indicates *FGF-21* potential as a treatment of obesity [13]. Related studies showed that *FGF-21* level increases after the training among overweight and obese patients [14]. However, Kruse et al. reported the ineffectiveness of endurance training in the circulation levels of *FGF-21*. Probably because the involved mechanisms are undetermined. In recent years, High-Intensity Interval Training (HIIT) has been known as an effective training intervention, which can benefit more than Medium-Intensity Interval Training (MIIT). As an instance, HIIT interventions have shown similar effects to Moderate-Intensity Continuous Training (MICT) on metabolic adaptations of the skeletal muscle, cardiovascular fitness, and body composition [15]. Moreover, HIIT causes a significantly higher increase than MIIT in the serum level of *FGF-21*. The existing body of research showed that *FGF-21* is increased in response to acute physical training. Yet, no change or reduction has been reported in this hormone in response to the training [16, 17].

Besides physical training, the existing research has shown that some herbs are effective in patients with cardiovascular diseases [18]. In Iranian traditional medicine, one effective herb for this purpose is fenugreek. Interestingly, this herb has a wide range of therapeutic effects, including the anti-arthrosclerosis and anti-inflammatory effects, as well as the effects on controlling blood fat, lipid, blood pressure, and glyceride [19]. Fenugreek enjoys a hot and dry nature, and its leaves are effectively used to relieve cold coughs, splenomegaly, hepatitis, backache, and cold bladder. Besides, the herb seeds have topical laxatives, anti-inflammatory, and sore joint relieving effects. Its brewed drink mixed with honey has been recommended to treat shortness of breath and internal swelling. The seeds are especially beneficial. Several recent studies have proven the effectiveness of fenugreek seeds on reducing cholesterol [20]. Most therapeutic effects of fenugreek seeds observed in related studies point to the antioxidant, anti-inflammatory, and prebiotic effect of its active components. Research has also shown that this herb has an anti-inflammatory and anti-oxidant effect on animal models with infarction [21]. Despite the widespread use of fenugreek seeds in traditional medicine, no related research was found to explore the effect of this herb in combination with interval training on angiogenesis indices. Thus, because of the contradictory findings from different studies exploring different intensities of training and the effect of consuming herbal supplementary medicines, the present research aimed to explore the effect of interval training combined with the consumption of fenugreek seeds on the gene expression of *FGF-21* and *VEGF* in patients with coronary artery occlusion.

www.SID.ir

2. Materials and Methods

The present quasi-experimental research had a pre-test, post-test design. The target population comprised all men with CAD aged between 55 and 65 years. They visited Rouhani and Shahid Beheshti hospitals in Babol City, Iran (2018-2019) and had no experience of regular physical activity and no previous consumption of fenugreek seeds (for at least the past six months). They were invited to participate in the research through a public announcement. Among all patients willing to participate in the research, 32 patients were selected. After being physically examined by a physician and signed an informed consent form, they entered the study. They were randomly divided into four groups: the control, the fenugreek consumption only, the training only, and the training + fenugreek consumption.

The training protocol

The training protocol involved 8 weeks of interval training in running, 3 sessions a week with an intensity of 55%-65% of the trainees' Heart Rate Reserve (HRR) and a gradual increase in intensity. The training protocol involved indoor running. Every session began with 10 minutes of general warm-up, including light stretching movements to dynamically involve all body limbs and the sessions ended with 10 minutes of cooling down. The main training aimed to reach the target intensity and was performed wearing a Polar sport watch to display the heart rate. The training protocol is presented in Table 1 [22].

Fenugreek seed extract consumption protocol

Fenugreek seeds were supplied from the countryside of Kermanshah City, Iran, and were then powdered. One thousand grams of the powder was inserted in a 2-L Erlenmeyer flask, and then 2 L of distilled water and ethanol (96%) were added. The content was soaked for 48 hours and then was filtered through filter papers. Next, a rotavapor was used to extract the alcohol. The remaining content was concentrated and dried [23]. The subjects in the fenugreek only and training + fenugreek groups consumed 10 mg/kg of the fenugreek seed extract for 8 weeks (every day at 6:00 PM).

Blood sampling and buffy coat preparation

Blood samples (5 mL from the subjects' brachial vein) were taken 24 hours before the intervention and 48 hours after the last day of the intervention (training, fenugreek only, training + fenugreek), after 24-hour fasting in Pasteur Laboratory in Babol. To prepare the buffy coat, the blood was centrifuged at 3000 rpm for 7 min. The resultant white substance between the red globule layer in the bottom and plasma on the top was the buffy coat. To segregate the buffy coat, a 1000-sampler was used, and this step was done gradually. The aim was to have DNA extracted from the buffy coat equal to 5-10 times as much as the total blood's DNA.

To extract RNA, about 100 mL of the buffy coat was inserted in a micro-tube without any RNAase, and then 1 mL of TRIzol (that of the RNA extraction content by Sigma Corporation) was added. The micro-tube was centrifuged for 15 minutes at 2°C-8°C and a speed of 12000 rpm. Finally, the sediment was solved into Diethyl Pyrocarbonate (DEPC) treated water and stored at -70°C. Except for the first step, which was done under an ordinary hood due to the toxicity of TRIzol, all the other steps were conducted under a luminary hood. The extracted RNA was quantitatively measured via spectrophotometry and agarose gel electrophoresis. cDNA was made using a Fermentas kit (made in Germany). To develop the primers, all the existing limits were taken into account, and the Gen Runner (5.5.51) and Oligo 7.0 were used. After that, their specificity was checked in Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) on the National Center for Biotechnology Information (NCBI) website. Table 2 presents the primers developed for this aim.

After a reverse transcription reaction to propagate the target segment and quantitative measurement of gene expressions, the real-time PCR was performed on the cDNA using SYBR Green dye. To determine the efficiency of primers, we used the LinRegPCR in which one group is set for the target samples with a pair of primers, and then for each group (each pair of primers), the efficiency was estimated. After examining all real-time PCRs, the resultant efficiencies were averaged to estimate the final efficiency. After the real-time PCR, the raw data were collected and analyzed.

Data analysis procedure

Descriptive statistics were used to analyze the data. Within-group and between-group changes were analyzed with pre-test, post-test design through 2-way repeated measures ANOVA and Tukey's test. The significance level for all cases was set at $\alpha \leq 0.05$. All statistical procedures were done using GraphPad prism 8 and Excel.

3. Results

Figure 1 shows the electrophorese of the extracted RNA on an agarose gel. As it can be observed, the presence of S28 and S18 RNA bands of ribosome show the healthy and ideal quality of the extracted RNA.

The results summarized in Table 3 indicate significant differences between the pre-test and post-test in terms of

www.SID.ir

Table 1. Training protocol

Week	The Intensity of Training (%)	The Intensity of Rest (%)	Total Training Time (min)
1	55	35	50
2	55	35	50
3	60	35	60
4	60	40	60
5	65	45	65
6	65	45	65
7	65	45	65
8	65	45	70

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

changes in the gene expression of VEGF and *FGF-21* (P<0.0001). Within-group changes showed that the mean ratio of *FGF-21* gene expression in the training-only group, fenugreek-only group, and the training + fenugreek group was significantly increased from the pre-test to the post-test as compared to the control group (P<0.0001). Tukey's test results showed a statistically significant increase in the mean expression of *FGF-21* in the training only, fenugreek only, and training + fenugreek groups compared to the control group (P<0.0001). The training + fenugreek group showed a higher statistically significant increase than the training only and the fenugreek only groups (P<0.0001). However, the training-only group showed no statistically significant difference with the fenugreek-only group (P=0.4987) (Figure 2).

Moreover, within-group comparison results showed that the mean coefficient of variation of the *VEGF* gene expression was significantly increased more than in training-only group (P<0.0001), fenugreek-only group (P=0.0004), and fenugreek + training group (P<0.0001) compared to the control group. The fenugreek + training group showed a statistically significant increase compared to the training-only group (P=0.0181) and the fenugreek-only group (P<0.0495). However, the training-only group showed no statistically significant difference with the fenugreek-only group (P=0.9999) (Figure 3).

4. Discussion

The present research explored the effect of interval training and consumption of fenugreek seeds on *VEGF* and *FGF-21* gene expressions in patients with coronary artery diseases. The results revealed that the ratio of *VEGF* and FGF-21 gene expression was increased in patients with CAD after an interval training combined with the consumption of fenugreek seeds. No statistically significant difference was observed between the effect of the interval training and the consumption of the fenugreek seeds. Yet, the combined group (training + fenugreek) showed a significantly increased effect. FGF family members possess an intracellular activity, paracrine, and endocrine with different effects on metabolism and the potential activities of the cardiovascular system. There is evidence that the endogenous gland family members are correlated with metabolic markers and prognosis of CAD. *FGF-21* is a new member of the FGF family and plays a potentially crucial role in cardiovascular diseases and especially atherosclerosis. It has been shown that *FGF-21* level is strongly correlated with cardiovascular risk and conditions such as blood cholesterol,

Table 2. Primers used in gene identification

Gene	Forward Primer 3'-5'	Reverse Primer 3'-5'	Annealing Temperature
FGF21	TGAGGATCCAGCCGAAAGAG	CAGCACAGAAACCCACAGTC	60°C
VEGF	GGCCAGCACATAGGAGAGAT	TTTAACTCAAGCTGCCTCGC	60°C

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

www.SID.ir

Table 3. ANOVA results of the coefficient of variance for *VEGF* and FGF21 gene expression

Gene		F	P
FGF-21	Group×time	38.77	**<0.0001**
	Time	1.043	<0.0001
	Group	41.1478	<0.0001
VEGF	Group×time	33.90	<0.0001
	Time	8.896	<0.0001
	Group	36.57	<0.0001

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

hypertension, diabetes, and obesity. Yet, different metabolic effects of *FGF-21* have already been shown in experimental animal models. These effects show that *FGF-21* may have a protective effect on the cardiovascular system and lower the risk factors. There is evidence for the protective effect of *FGF-21* on endothelial damage and atherosclerosis through plaque formation and the ischemic damage of cardiac myocytes associated with oxidative stress [9].

Moreover, in today's world characterized by the ever-growing use of technology and mechanical life, there is less physical activity. The diseases induced by low physical activity are on the rise, and the most prevalent ones are cardiovascular diseases [24]. *FGF-21* level is increased in physical training [15]. Much research revealed that the gene expression of *FGF-21* increases after physical training, primarily induced by this hormone's production in hepatocytes. This production is upregulated due to the increased ratio of glucagon to insulin (an increase in glucagon and a decrease in insulin) [16]. High-Intensity Interval Training (HIIT) can significantly increase the serum *FGF-21*, while Medium-Intensity Interval Training (MIIT) has no significant effect on this hormone [11, 15]. *FGF-21* expression and secretion are upregulated by an over-expression of Akt1. Regarding the activation of Akt1 after physical exercises, Chavanelle et al. showed recently that HIIT leads to higher activation of Akt1 than the MIIT. Thus, an increase in the expression of FGF21 as a result of interval training is due to the activation of Akt1 [25]. The present findings are consistent with a body of research [13, 18, 25] and inconsistent with some others [26]. The inconsistency of findings is due to the genetic measurement of factors such as *FGF-21* and VEGF and the measured tissue. Lloyd et al. investigated the angiogenesis of skeletal muscles in response to physical training to explore the angiogenesis process. The results revealed that in the training group, VEGF increased 3-6 times within 12 days; yet, no change was observed in the control group [27]. There is evidence that in ischemic and hypoxic condi-

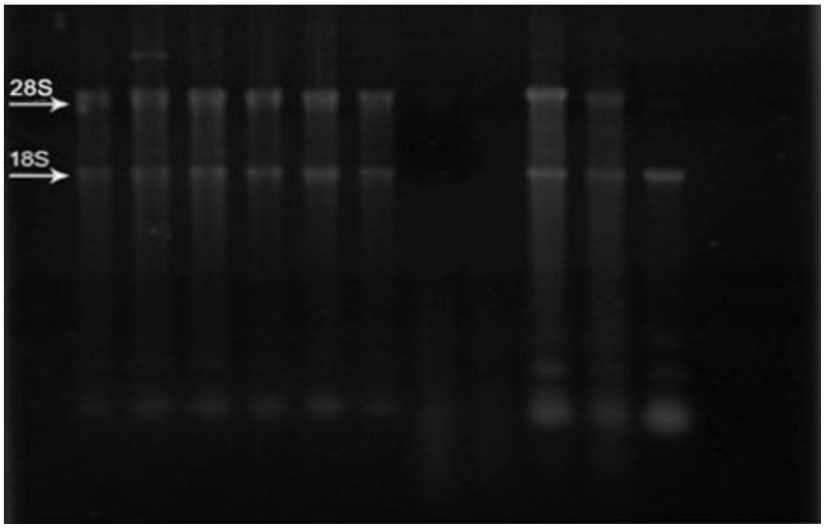
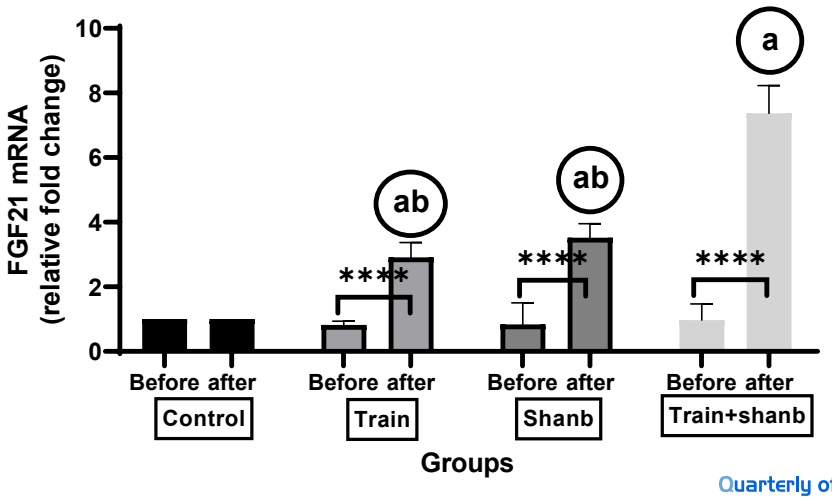


Figure 1. The electrophorese of the RNAs extracted on agarose gel

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

www.SID.ir



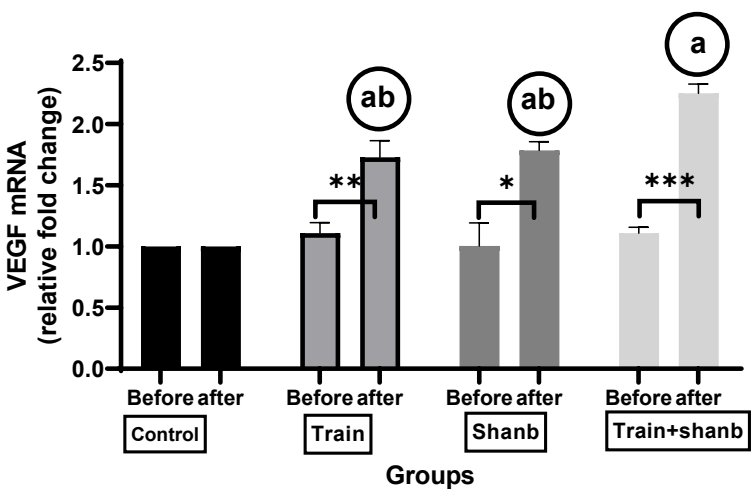
Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 2. Comparative results of *FGF-21* gene expression in different research groups from the pre-test to post-test

Before: 24 hours before the interventions; After: 48 hours after the last day of the intervention; Control: Control group; Train: training group; Shanb: fenugreek; Train-Shanb: training + fenugreek; [a] significant compared to the control group (P<0.0001); [b] significant compared to the fenugreek + training group (P<0.0001); ****P<0.0001.

tions, the Hypoxic Induction Factor (HIF1) was increased. HIF-1 activation initiates functional adaptations (e.g. the gene expression of *VEGF*), which can reduce the adverse effects of exposure to hypoxia. After secretion, HIF-1 can detect Hypoxic Reactive Elements (HRE) located on the target genes in the nucleus. The reaction HIF-1 and HRE initiates the transcription of the target genes (those related to *VEGF*) [28].

Overall, the hypoxia occurring as a result of the interval training activates pro-angiogenesis pathways. As a result of adaptation to training, the upregulation of *VEGF* and FGF21 happen as strong angiogenesis stimulants. A body of research has shown that in cardiac patients, aerobics has been more effective than other exercises on endothelial functioning. This training managed to increase the vasodilation induced by the bloodstream by 1%-5% [29]. It has been shown that interval training increases shear stress due



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 3. Comparative results of *VEGF* gene expression in different research groups from the pre-test to post-test

Before: 24 hours before the interventions; After: 48 hours after the last day of the intervention; Control: Control group; Train: training group; Shanb: fenugreek; Train-Shanb: training + fenugreek; [a] significant compared to the control group (P<0.05); [b] significant compared to the fenugreek + training group (P<0.05); ****P=0.0001; **0.0001<P<0.05; *P<0.05.

www.SID.ir

to topical intermittent recurrences [30]. Moreover, according to recent investigations, fenugreek is known for its anti-atherosclerosis, anti-inflammatory, and antioxidant effects [31]. Research findings showed that consuming fenugreek seeds besides swimming exercises had a strong therapeutic effect on reducing cholesterol and artery occlusion besides improving diabetes parameters [2]. It has also been found that obese people with high lipid tissue need to have a wider vascular bed to allow blood circulation. Thus, this adaptation to training and fenugreek consumption can, in the long run, improve atherosclerosis. Yet, further in-depth research is needed on this issue.

Although there is no direct investigation of the effect of fenugreek on angiogenesis, it has been shown that some of its ingredients, including a group of phenols with low molecular weight, have a particular effect on the treatment of cardiac diseases. Moreover, a body of research has attested to the anti-oxidant effect of fenugreek due to the capability of flavonoids in inhibiting lipid peroxidation and protection against anti-oxidative stress. Flavonoids can regulate some phases of angiogenesis, such as cell migration and micro-capillary tube formation [32]. Fenugreek improves the maximal and sub-maximal aerobic function [33]. Besides, the above-mentioned studies showed that fenugreek extract significantly reduces the atherogenic index. Fenugreek possesses bitter saponins such as protodioscin. A body of research has proven the effectiveness of diosgenin (a form of protodioscin and dioscin) in lipid and glucose metabolism. Diosgenin increases the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Y (PPARY) level in the white tissue and induces cell differentiation, and reduces the size of fat cells. These events would increase adiponectin secretion, which inhibits inflammation in fat cells. Moreover, diosgenin reduces the triglyceride level and mRNA expression in lipogenetic genes [20].

5. Conclusion

An increase in the CV of *VEGF* and *FGF-21* gene expression in the research groups probably lead to the pre-angiogenetic functioning of endothelial cells. HIIT might cause a faster adaptation to aerobic interval training in the body. The results revealed that a combination of the interval training and consumption of fenugreek seeds managed to increase the coefficient of variation of the *FGF-21* and *VEGF* gene expression and can probably positively affect the pro-angiogenesis pathway in patients with coronary artery occlusion.

One limitation of the present research was the small sample size and the measurement of few angiogenetic indices. Further research is required to know the potential mechanisms involved in the effect of the training and consumption of fenugreek seeds on larger samples using a wider range of indices.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This research project was approved by the Ethics Committee of Islamic Azad University of Babol (Code: #IR.IAU.BABOL.REC.1398.091).

Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.

Authors' contributions

All authors equally contributed to preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

www.SID.ir

افق دانش
فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی کنکاد
بهار ۱۴۰۰. دوره ۲۷. شماره ۲

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین دوره‌ای و مصرف عصاره دانه شنبلیله بر بیان ژن *FGF-21* و VEGF در بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر

عباد روح‌بخش[۱]، *علیرضا براری[۱]، هاجر عباس‌زاده[۲]

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.
۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۲۶ شهریور ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۱۰ آبان ۱۳۹۹
تاریخ انتشار: ۱۲ فروردین ۱۴۰۰

کلیدواژه‌ها:
تمرین دوره‌ای؛ شنبلیله؛ فاکتور رشد فیبروبلاست (*FGF-21*)؛ فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)؛ بیماری عروق کرونر

چکیده

اهداف رژیم غذایی پرچرب، استعمال دخانیات و بی‌تحرکی از دلایل عمده بیماری عروق کرونر (CAD) است. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر تمرین دوره‌ای همراه با مصرف عصاره دانه شنبلیله بر بیان ژن *FGF-21* و *VEGF* در بیماران مبتلا به CAD انجام شد.

مواد و روش‌ها این مطالعه نیمه‌تجربی روی ۳۲ بیمار مرد مبتلا به CAD انجام شد که سن آن‌ها بین ۵۵ تا ۶۵ سال بود. این افراد به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، فقط تمرین، فقط شنبلیله و گروه تمرین+شنبلیله تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل هشت هفته تمرین دویدن با فاصله زمانی، سه جلسه در هفته با شدت ۵۵ تا ۶۵ درصد ذخیره ضربان قلب و با افزایش تدریجی شدت بود. افراد روزانه ده میلی‌گرم عصاره شنبلیله مصرف کردند. برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های *FGF-21* و *VEGF* از PCR در زمان واقعی استفاده شد.

یافته‌ها میانگین نسبت بیان FGF21 در گروه‌های فقط تمرین، فقط شنبلیله و تمرین+شنبلیله به طور قابل توجهی بالاتر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۰۰۱). گروه تمرین+شنبلیله از نظر آماری افزایش معنی‌دار بیشتری نسبت به گروه‌های فقط تمرین و فقط شنبلیله داشت (P<۰/۰۰۰۱). علاوه بر این، میانگین ضریب تغییرات (CV) بیان ژن VEGF در گروه فقط تمرین (P<۰/۰۰۰۱)، فقط شنبلیله (P=۰/۰۰۰۴) و تمرین+شنبلیله (P<۰/۰۰۰۱) به طور قابل توجهی بیشتر از گروه کنترل بود. همچنین گروه تمرین+شنبلیله افزایش معنی‌دار بیشتری نسبت به گروه فقط تمرین (P=۰/۰۱۸۱) و فقط شنبلیله (P<۰/۰۴۹۵) نشان داد.

نتیجه‌گیری ترکیبی از تمرین دوره‌ای و مصرف عصاره دانه شنبلیله، موفق به افزایش CV بیان ژن *FGF21* و *VEGF* می‌شود؛ بنابراین می‌تواند اثرات مفیدی در مسیر آنژیوژنز در بیماران با انسداد شریان کرونر داشته باشد.

مقدمه

بیماری عروق کرونر[1] بیش از سایر بیماری‌ها بر جهان غلبه کرده و بسیاری از معلولیت‌ها و مرگ‌ومیرها را به خود اختصاص داده است. رژیم غذایی پرچرب، استعمال دخانیات و سبک زندگی غیرفعال از عوامل اصلی مؤثر در ایجاد این بیماری هستند [۱].

درمان و توان‌بخشی این بیماری پرهزینه است و با هزینه‌های مالی و تهدیدکننده زیادی همراه است؛ بنابراین جلوگیری از عوامل زمینه‌ای ایجادکننده این بیماری ضروری است. پیشگیری از بیماری از طریق کنترل عوامل خطر بیماری‌های قلبی ـ عروقی مانند فشار خون بالا، چربی خون (چربی‌ها)، درصد چربی‌های بدن و انجام تمرینات بدنی امکان‌پذیر است [۲].

تمرین بدنی، بدن را بسیار سازگار می‌کند و می‌تواند میزان مرگ‌ومیر بیماری‌های قلبی ـ عروقی را کاهش دهد و به بهبود عملکرد قلب و عروق کمک کند. یکی از این سازگاری‌ها، روش آنژیوژنز است.

فاکتورهای مختلف رشد در این روش نقش دارند که مهم‌ترین آن‌ها فاکتور رشد فیبروبلاست[2] و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی[3] هستند [۳، ۴]. *VEGF* قوی‌ترین میتوژن مخصوص سلول‌های اندوتلیال است [۵] که به عنوان تنظیم‌کننده اصلی آنژیوژنز شناخته می‌شود [۴].

این فاکتورهای رشد اندوتلیال عروقی، عملکرد بیولوژیکی خود

1. Coronary Artery Disease (CAD)

2. Fibroblast Growth Factor (FGF)

3. Vascular Endothelial Growth Factor (*VEGF*)

* نویسنده مسئول:
دکتر علیرضا براری
نشانی: آمل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت‌الله آملی، گروه فیزیولوژی ورزشی.
تلفن: ۱۲۷۷۷۹۳ (۹۱۱) ۹۸+
پست الکترونیکی: alireza54.barari@gmail.com

www.SID.ir

را از طریق تأثیر بر گیرنده‌های تیروزین kinesis[4] در غشای پلاسمای سلول‌های هدف انجام می‌دهند. این گیرنده‌ها پس از اتصال به لیگاند خود، به دیمر تبدیل شده و فسفریله می‌شوند که درنهایت به حوادث آبشار داخل سلول ختم می‌شود.

VEGF در پاسخ به محرک‌هایی مانند هیپوکسی و تنش برشی (نیروی همودینامیکی ناشی از اصطکاک جریان خون و دیواره‌های شریان‌ها) از سلول‌های اندوتلیال ترشح می‌شود [۵]. برخی تحقیقات در مورد بیان ژن *VEGF* در عضله اسکلتی انسان نشان‌دهنده افزایش هم‌زمان *VEGF* mRNA و پروتئین *VEGF* فیبرهای عضلانی بودند [۶].

میلی‌هارجو[5] و همکاران، بیان ژن یعنی فاکتور رشد آندوتلیال عروقی (*VEGF*) را کاوش کرده و مشاهده کردند که پنج جلسه آزمایش موفق به کاهش پاسخ افزایش بیان فاکتور رشد تغییردهنده بتا[6]، فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF) و فاکتور رشد آندوتلیال عروقی (*VEGF*) به یک جلسه آزمایش حاد می‌شود [۷].

بیان *VEGF* به طیف گسترده‌ای از عوامل، از جمله هورمون‌ها، فاکتورهای رشد و تراکم اکسیژن بستگی دارد. در صورت کمبود اکسیژن، فاکتورهای القاکننده کمبود اکسیژن[7] ($HIF\alpha_1$ و $HIF\alpha_2$) به پروموتر ژن *VEGF-a* متصل می‌شوند؛ بنابراین بیان *VEGF* را افزایش می‌دهند.

در شرایط ایسکمیک، HIF-1a، در پایین‌دست، بسیاری از مولکول‌ها مانند *VEGF* و گیرنده آن را افزایش می‌دهد که به نوبه خود *VEGF* را تنظیم می‌کند و اثر نوروتروفیک آن را روی سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های عصبی به دنبال شرایط کمبود اکسیژن افزایش می‌دهد، در حالی که یک تمرین بدنی نیز انجام می‌شود، تمرینات بدنی حاد و مزمن به عنوان یک عامل قوی در آنژیوژنز می باشد.

مجموعه‌ای از تحقیقات نشان دادند تمرین استقامتی به افزایش عوامل دخیل در آنژیوژنز در اندام‌های مختلف کمک می‌کند. مطالعات نشان دادند افزایش آنژیوژنز در آستانه ۷۰ تا ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی ($VO2_{MAX}$) در عضله اسکلتی اتفاق می‌افتد.

با این حال، یک‌بار تمرین استقامتی زیاد در آستانه ۴۵ درصد $VO2_{MAX}$ هیچ تأثیری در آنژیوژنز در عضله اسکلتی ندارد [۸]. شاخص آنژیوژنز دیگر، فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF) است که از خانواده فاکتورهای رشد بوده و در آنژیوژنز، درمان آسیب‌ها و رشد جنین نقش دارد [۹]. از بین آن‌ها، *FGF-21* به عنوان هپاتوکین / میوکین / آدیپوکین معرفی شده و در کبد و عضلات بیان می‌شود و نقش اصلی تنظیم‌کننده‌ای در متابولیسم گلوکز و چربی در انسان و جوندگان دارد [۱۰].

FGF-21 از طریق القای ناقل گلوکز ۱ (GLUT-1) باعث تحریک جذب گلوکز در سلول‌های چربی می‌شود و از ترشح گلوکاگون توسط سلول‌های آلفای لوزالمعده جلوگیری می‌کند [۱۱]. علاوه بر این، افزایش *FGF-21* از طریق افزایش سطح پروتئین گیرنده فعال کننده تکثیر پروکسي زوم [8] [۱۲] و فعال کردن مسیر AMPK-SIRT1-PGC-1α که نشان‌دهنده پتانسیل *FGF-21* به عنوان درمان چاقی است، بافت چربی سفید (WAT) را به قهوه‌ای تبدیل می‌کند [۱۳].

مطالعات مرتبط نشان دادند سطح *FGF-21* پس از تمرین در بیماران چاق و دارای اضافه‌وزن افزایش می‌یابد [۱۴]. با این حال، جئون و همکاران [۱۵]، ناکارآمدی تمرین استقامتی را در سطح گردش خون *FGF-21* گزارش کردند. مکانیسم‌هایی در این مورد تعیین نشده‌اند. در سال‌های اخیر، تمرین با شدت زیاد[9] به عنوان یک آزمایش تمرینی مؤثر شناخته شده است که می‌تواند مزایای بیشتری نسبت به تمرین با فاصله متوسط[10] داشته باشد.

به عنوان مثال، آزمایشات HIIT اثرات مشابه تمرینات تداومی با شدت متوسط (MICT) را در سازگاری متابولیکی عضله اسکلتی، تناسب اندام قلبی ـ عروقی و ترکیب بدن نشان داده‌اند [۱۵]. علاوه بر این، تمرینات تناوبی باشدت بالا (HIIT) باعث افزایش قابل توجهی بالاتر از MIIT در سطح سرمی *FGF-21* می‌شود.

مجموعه تحقیقات موجود نشان دادند *FGF-21* در پاسخ به یک تمرین بدنی حاد افزایش می‌یابد. با این حال، هیچ تغییر یا کاهشی در این هورمون در پاسخ به تمرین گزارش نشده است [۱۶، ۱۷]. علاوه بر تمرین بدنی، تحقیقات موجود نشان می‌دهند برخی گیاهان در درمان بیماران مبتلا به بیماری‌های قلبی ـ عروقی مؤثر هستند [۱۸]. در طب سنتی ایران، گیاه شنبلیله به عنوان گیاه مؤثر برای این منظور شناخته شده است. آنچه در مورد این گیاه جالب توجه است، طیف وسیعی از اثرات درمانی آن، از جمله اثرات ضد آرتروسکلروز و ضدالتهاب و نیز تأثیرات آن بر کنترل چربی خون، چربی، فشار خون و گلیسیرید است [۱۹].

شنبلیله از طبیعت گرم و خشک برخوردار است و از برگ‌های آن به طور مؤثری برای تسکین سرفه‌های سرماخوردگی، التهاب طحال، کبد، کمردرد و مثانه سرد استفاده می‌شود. علاوه بر این، دانه‌های این گیاه ملین موضعی مؤثر، ضدالتهاب و تسکین‌دهنده مفاصل هستند. نوشیدنی دم‌کرده آن که با عسل مخلوط شده است برای درمان تنگی نفس و تورم داخلی توصیه شده است.

4. Receptor tyrosine kinases
5. Myllyharju
6. Transforming Growth Factor Beta (TGF-β)
7. Hypoxia-Inducible Factors (HIFs)
8. PGC-1α
9. High-Intensity Interval Training (HIIT)
10. Medium-Intensity Interval Training (MIIT)

www.SID.ir

بذرها، مخصوصاً مفید هستند. چندین مطالعه اخیر تأثیر دانه شنبلیله در کاهش کلسترول را ثابت کرده‌اند [۲۰].

بیشتر اثرات درمانی دانه شنبلیله که در مطالعات مرتبط مشاهده شده، به اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و پری‌بیوتیکی اجزای فعال دانه‌ها اشاره دارد. تحقیقات همچنین نشان داده‌اند این گیاه دارای اثر ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی روی نمونه‌های حیوانی مبتلا به انفارکتوس است [۲۱].

علی‌رغم استفاده گسترده از دانه شنبلیله در طب سنتی، هیچ تحقیق مرتبطی در مورد بررسی تأثیر این گیاه در ترکیب با تمرین دوره‌ای بر شاخص‌های آنژیوژنز پیدا نشد؛ بنابراین با توجه به یافته‌های متناقض حاصل از مطالعات مختلف در مورد بررسی شدت‌های مختلف تمرین و تأثیر مصرف داروهای مکمل گیاهی، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرین دوره‌ای همراه با مصرف دانه شنبلیله بر بیان ژن *FGF-21* و *VEGF* در بیماران با انسداد شریان کرونر انجام شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع نیمه‌تجربی با طرح قبل و بعد از آزمون بود. جامعه هدف، همه مردان مبتلا به CAD بودند که سن آن‌ها بین ۵۵ تا ۶۵ سال بود. آن‌ها به بیمارستان‌های روحانی و شهید بهشتی بابل (در نیمه دوم سال ۲۰۱۸ تا ۲۰۱۹) مراجعه کردند و هیچ تجربه فعالیت بدنی منظم و مصرف قبلی دانه شنبلیله (حداقل در شش ماه گذشته) را نداشتند.

از طریق یک اطلاعیه عمومی از این بیماران دعوت شد تا در تحقیق شرکت کنند. از بین تمام بیمارانی که مایل به شرکت در تحقیق بودند، ۳۲ بیمار انتخاب شدند که به صورت تصادفی انتخاب شدند و همچنین به صورت تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. نمونه‌ها پس از معاینه جسمی توسط پزشک و نیز امضای فرم رضایت آگاهانه به مطالعه راه یافتند. این افراد به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، فقط مصرف شنبلیله، فقط تمرین و گروه تمرین+مصرف شنبلیله تقسیم شدند.

پروتکل تمرین

پروتکل تمرین شامل هشت هفته تمرین متناوب به صورت دویدن، سه جلسه در هفته با شدت ۵۵ تا ۶۵ درصد ضربان قلب ذخیره (HRR) و افزایش تدریجی شدت بود. پروتکل تمرین شامل دویدن در محیط داخلی بود. هر جلسه با ده دقیقه گرم شدن عمومی شامل حرکات کششی سبک برای درگیر کردن اندام‌های بدن به صورت پویا آغاز می‌شد و جلسات با ده دقیقه خنک شدن به پایان می‌رسید.

تمرین اصلی با هدف دست‌یابی به شدت هدف با استفاده از ساعت ورزشی قطبی برای نمایش ضربان قلب انجام شد. پروتکل تمرین در جدول شماره ۱ [۲۲] نشان داده شده است.

پروتکل مصرف عصاره دانه شنبلیله

بذر شنبلیله از حومه کرمانشاه تهیه و سپس پودر شد. هزار گرم پودر در یک فلاسک دو لیتری ارلن مایر قرار داده شد. سپس دو لیتر آب مقطر و اتانول ۹۶ درصد اضافه شد. محتوا به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد و سپس از طریق کاغذهای فیلتر، فیلتر شد. سپس از روتاواپور برای استخراج الکل استفاده شد. محتوای باقی‌مانده غلیظ و خشک شد [۲۳].

افراد فقط در گروه شنبلیله و گروه‌های تمرین+شنبلیله ده میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره دانه شنبلیله را به مدت هشت هفته (هر روز در ساعت شش بعدازظهر) مصرف کردند.

جدول ۱. پروتکل تمرین بدنی مورد استفاده در پژوهش

هفته	شدت تمرین (درصد)	شدت استراحت (درصد)	کل زمان تمرین (دقیقه)
۱	۵۵	۳۵	۵۰
۲	۵۵	۳۵	۵۰
۳	۶۰	۳۵	۶۰
۴	۶۰	۴۰	۶۰
۵	۶۵	۴۵	۶۵
۶	۶۵	۴۵	۶۵
۷	۶۵	۴۵	۶۵
۸	۶۵	۴۵	۷۰

www.SID.ir

جدول ۲. آغازگرهای مورد استفاده در شناسایی ژن

ژن	آغازگر جلو '۳-'۵	آغازگر معکوس '۳-'۵	دمای آنیلینگ
FGF-21	TGAGGATCCAGCCGAAAGAG	CAGCACAGAAACCCACAGTC	۶۰ درجه سانتی‌گراد
VEGF	GGCCAGCACATAGGAGAGAT	TTTAACTCAAGCTGCCTCGC	۶۰ درجه سانتی‌گراد

افق دانش

نمونه‌گیری از خون و تهیه پوشش بوفی

نمونه خون (پنج میلی‌لیتر از ورید بازویی افراد) ۲۴ ساعت قبل از تمرین و ۴۸ ساعت پس از آخرین روز تمرین (تمرین، فقط شنبلیله و تمرین+شنبلیله)، پس از ۲۴ ساعت ناشتایی در آزمایشگاه پاستور در بابل گرفته شد.

برای تهیه پوشش بوفی، خون با سرعت سه هزار دور در دقیقه و به مدت هفت دقیقه کاملاً سانتریفیوژ شد. ماده سفید (پوشش لیفی) بین گلبول قرمز که در بخش پایینی خون و پلاسما که در بخش بالایی خون قرار دارد قرار می گیرد. برای جداسازی پوشش بوفی از هزار نمونه استفاده شد و این مرحله به تدریج انجام شد. هدف این بود که DNA از پوسته بوفی معادل ۵ تا ۱۰ برابر DNA کل خون استخراج شود. برای استخراج RNA، حدود صد میلی‌لیتر پوشش بوفی در یک میکرولوله بدون هیچ RNA-ase قرار داده شد و سپس یک سی‌سی TRIzol (مقدار محتوای استخراج RNA توسط شرکت سیگما) اضافه شد. میکرولوله به مدت پانزده دقیقه در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و با سرعت دوازده هزار سانتریفیوژ شد. سرانجام، رسوب در آب تصفیه‌شده با پیروکربوهیدرات رژیم غذای (DEPC)[11] حل و در یخچال ۷۰- درجه ذخیره شد. به جز مرحله اول که به دلیل سمیت TRIzol در زیر یک هود معمولی انجام شد، تمام مراحل دیگر تحت یک هود نورانی صورت گرفت. RNA استخراج‌شده از طریق اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز به صورت کمّی اندازه‌گیری شد.

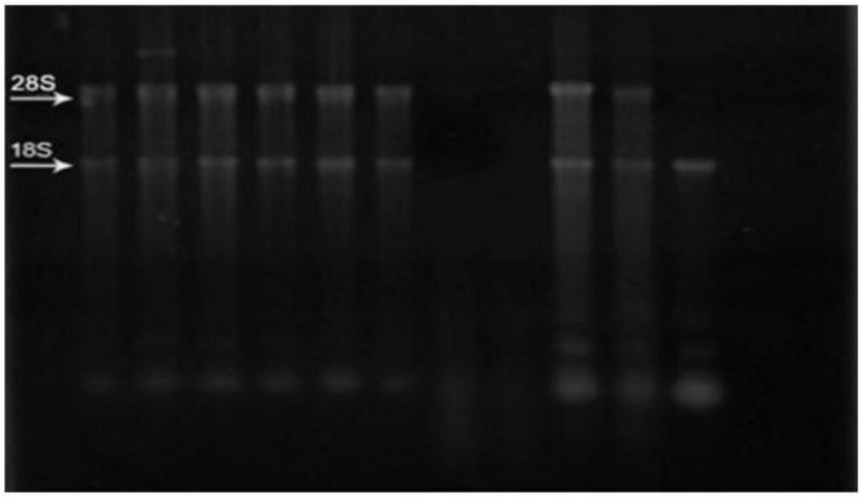
cDN A با استفاده از کیت Fermentas (ساخت آلمان) ساخته شد. برای توسعه آغازگرها، تمام محدودیت‌های موجود در نظر گرفته شد و از Gen Runner (۵/۵/۵۱) و Oligo ۷/۰ استفاده شد. پس از آن، ویژگی آن‌ها در BLAST[12] در سایت NCBI[13] بررسی شد. جدول شماره ۲ آغازگرهای تهیه‌شده برای این منظور را نشان می‌دهد. پس از واکنش رونویسی معکوس، برای تکثیر بخش هدف و اندازه‌گیری کمّی عبارات ژن، زمان واقعی PCR روی cDNA با استفاده از رنگ SYBR Green انجام شد.

برای تعیین کارایی آغازگرها، از LinReg PCR استفاده شد که در آن یک گروه برای نمونه‌های هدف با یک جفت آغازگر تنظیم می‌شود و سپس برای هر گروه (هر جفت آغازگر)، یک کارایی برآورد شد. پس از بررسیِ تمام PCRهای زمان واقعی، بازده حاصل برای تخمین کارایی نهایی به طور متوسط انجام شد. پس از PCR در زمان واقعی، داده‌های خام جمع‌آوری شده و

11. Diethyl pyrocarbonate

12. Basic Local Alignment Search TooL

13.National Center for Biotechnology Information



تصویر ۱. الکتروفورز RNAهای استخراج‌شده روی ژل آگارز

افق دانش

www.SID.ir

جدول ۳. ضرایب واریانس بیان ژن *VEGF* و *FGF21* (نتایج آزمون ANOVA)

ژن		F	P
FGF21	گروه × زمان	۳۸/۷۷	۰/۰۰۰۱
	زمان	۱/۰۴۳	۰/۰۰۰۱
	گروه	۴۱/۷۸	۰/۰۰۰۱
VEGF	گروه× زمان	۳۳/۹۰	۰/۰۰۰۱
	زمان	۸/۸۹۶	۰/۰۰۰۱
	گروه	۳۶/۵۷	۰/۰۰۰۱

افق دانش

تجزیه و تحلیل شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی استفاده شد. تغییرات درون‌گروهی و بین‌گروهی در یک طرح قبل و بعد از آزمون از طریق آنالیز واریانس (ANOVA) دوطرفه و اندازه‌گیری‌های مکرر و نیز آزمون تعقیبی توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی‌داری برای همه موارد کمتر از ۰/۰۵ تعیین شد. تمام مراحل آماری با استفاده از نرم‌افزارهای GraphPadprism نسخه ۸ و Excel انجام شد.

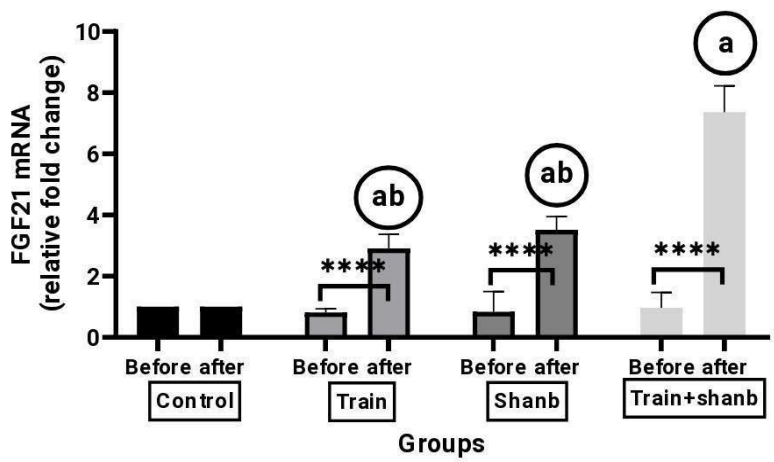
یافته‌ها

تصویر شماره ۱ الکتروفورز RNA استخراج‌شده روی ژل آگارز را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، وجود باندهای ریبوزوم S28 RNA و S18 کیفیت سالم و ایده‌آل RNA استخراج‌شده را نشان می‌دهد.

نتایج خلاصه‌شده در جدول شماره ۳ از نظر تغییرات بیان ژن *VEGF* و *FGF21* اختلاف معنی‌داری را در گروه‌های قبل و بعد از آزمون نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۰۱). تغییرات درون‌گروهی نشان داد میانگین نسبت بیان ژن *FGF21* در فقط تمرین، فقط شنبلیله و گروه‌های تمرین+شنبلیله نسبت به گروه کنترل به طور قابل توجهی از پیش‌آزمون به پس‌آزمون افزایش یافته است (P<۰/۰۰۰۱).

نتایج آزمون توکی، افزایش آماری معنی‌داری را در میانگین بیان FGF21 در گروه‌های فقط تمرین، فقط شنبلیله و تمرین+شنبلیله در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۰۰۱)

گروه تمرین+شنبلیله از نظر آماری افزایش معنی‌دار بیشتری نسبت به گروه‌های فقط تمرین و فقط شنبلیله داشت (P<۰/۰۰۰۱). با این حال، گروه فقط تمرین هیچ اختلاف آماری

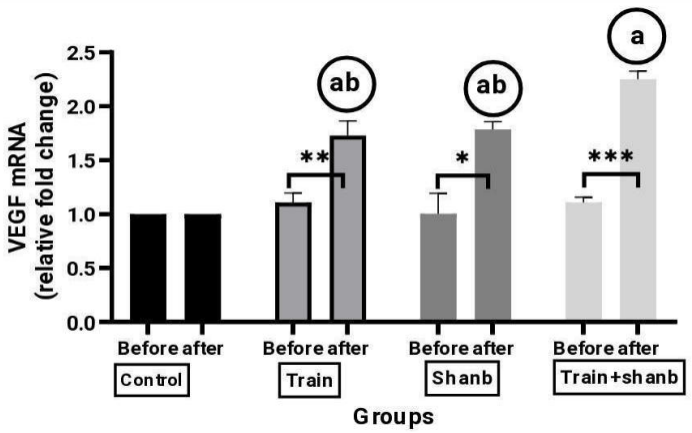


تصویر ۲. نتایج مقایسه بیان ژن FGF21 در گروه‌های مختلف تحقیقاتی از پیش‌آزمون تا پس‌آزمون

افق دانش

قبل: ۲۴ ساعت قبل از آزمایشات. بعد از: ۴۸ ساعت پس از آخرین روز تمرین. کنترل: گروه کنترل. تمرین: گروه تمرینی. Shanb: شنبلیله. Shanb+Train: تمرین+شنبلیله. a: در مقایسه با گروه کنترل قابل توجه است (P<۰/۰۰۰۱). b: در مقایسه با گروه تمرین+شنبلیله معنی‌دار است (P<۰/۰۰۰۱****).

www.SID.ir



تصویر ۳. نتایج مقایسه بیان ژن *VEGF* در گروه‌های مختلف تحقیقاتی از پیش‌آزمون تا پس‌آزمون

افق دانش

قبل: ۲۴ ساعت قبل از آزمایشات؛ بعد از: ۴۸ ساعت پس از آخرین روز تمرین؛ کنترل: گروه کنترل؛ تمرین: گروه تمرینی؛ Shanb: شنبلیله؛ Shanb+Train: تمرین+شنبلیله؛ a: در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است (P<۰/۰۵)؛ b: در مقایسه با گروه تمرین+شنبلیله معنی‌دار است؛ ***P≤0.0001 ,**P≤0.001 *P≤0.05

معنی‌داری را با گروه فقط شنبلیله نشان نداد (P=۰/۴۹۸۷) (تصویر شماره ۲).

علاوه بر این، نتایج مقایسه درون‌گروهی نشان داد میانگین ضریب تغییرات (CV) بیان ژن *VEGF* در گروه فقط تمرین (P<۰/۰۰۰۱)، فقط شنبلیله (P=۰/۰۰۰۴) و گروه تمرین+شنبلیله (P<۰/۰۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی افزایش یافته است.

گروه تمرین+شنبلیله از نظر آماری در مقایسه با گروه فقط تمرین (P=۰/۰۱۸۱) و گروه فقط شنبلیله (P<۰/۰۴۹۵) افزایش معنی‌داری را نشان داد. با این حال، گروه فقط تمرین هیچ اختلاف آماری معنی‌داری را با گروه فقط شنبلیله نشان نداد (P=۰/۹۹۹۹) (تصویر شماره ۳).

بحث

تحقیق حاضر به بررسی تأثیر تمرین دوره‌ای و مصرف دانه شنبلیله بر بیان ژن *VEGF* و *FGF21* در بیماران مبتلا به انسداد شریان کرونر پرداخت. نتایج نشان داد نسبت بیان ژن *VEGF* و FGF21 در بیماران مبتلا به انسداد شریان کرونر پس از یک دوره تمرین متناوب همراه با مصرف دانه شنبلیله افزایش یافته است.

از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری بین تأثیر تمرین دوره‌ای و مصرف دانه‌های شنبلیله مشاهده نشد. با این حال، گروه ترکیبی (تمرین+شنبلیله) افزایش قابل توجهی را نشان داد. اعضای خانواده FGF دارای یک فعالیت درون‌سلولی، پاراکرین و غدد درون‌ریز با تأثیرات مختلف بر متابولیسم و فعالیت‌های بالقوه سیستم قلبی ـ عروقی هستند.

شواهدی وجود داشته است که اعضای خانواده غدد درون‌زا با مارکرهای متابولیکی و پیش‌آگهی CAD و پیامدهای این بیماری ارتباط دارند. FGF21 عضو جدیدی از خانواده FGF است که به طور بالقوه نقشی اساسی در بیماری‌های قلبی ـ عروقی و به‌خصوص تصلب شرایین دارد.

سطح *FGF21* به شدت با خطر قلبی ـ عروقی و شرایطی مانند کلسترول خون، فشار خون بالا، دیابت و چاقی در انسان ارتباط دارد. با این حال، اثرات متابولیکی مختلف *FGF21* قبلاً در مدل‌های آزمایشی و حیوانی نشان داده شده است.

این‌ها نشان می‌دهند که *FGF21* ممکن است اثر محافظتی بر سیستم قلبی ـ عروقی داشته باشد و به کاهش خطر کمک کند. شواهدی در مورد اثر محافظتی *FGF21* در آسیب اندوتلیال و تصلب شرایین از طریق تشکیل پلاک و آسیب ایسکمیک میوسیت‌های قلبی مرتبط با استرس اکسیداتیو وجود دارد [۹].

علاوه بر این، در دنیای امروز که با استفاده روزافزون از فناوری و زندگی مکانیکی مشخص شده است، فعالیت بدنی کمتری تحت تأثیر زندگی مدرن وجود دارد. بیماری‌های ناشی از فعالیت بدنی کم در حال افزایش است و شایع‌ترین آن‌ها بیماری‌های قلبی ـ عروقی است [۲۴].

سطح *FGF21* در تمرین بدنی افزایش می‌یابد [۱۵]. مجموعه‌ای از تحقیقات نشان دادند افزایش سطح سرم و بیان ژن *FGF21* در نتیجه تمرین بدنی در درجه اول ناشی از تولید این هورمون در میان سلول‌های کبدی است که به دلیل افزایش نسبت گلوکاگون به انسولین (افزایش گلوکاگون و کاهش انسولین) ارتقا می‌یابد [۱۶].

تمرین با شدت زیاد (HIIT) می‌تواند به طور قابل توجهی *FGF21* سرم را افزایش دهد، در حالی که تمرین با شدت متوسط (MIIT) هیچ تأثیر قابل توجهی روی این هورمون ندارد [۱۱، ۱۵].

www.SID.ir

بیان و ترشح FGF21 با بیان بیش از حد Akt1 تنظیم می‌شود.

در مورد فعال‌سازی Akt1 پس از تمرینات بدنی، تیلور چاونل[14] و همکاران اخیراً نشان دادند HIIT منجر به فعال‌سازی بالاتر Akt1 نسبت به MIIT می‌شود؛ بنابراین به نظر می رسد افزایش بیان *FGF21* در نتیجه تمرین دوره‌ای به دلیل فعال‌سازی Akt1 است [۲۵].

یافته‌های حاضر با مجموعه‌ای از تحقیقات [۱۳، ۱۸، ۲۵] سازگار و با برخی دیگر ناسازگار است [۲۶]. عدم تطابق یافته‌ها به دلیل اندازه‌گیری ژنتیکی عواملی مانند *FGF21* و *VEGF* و بافت اندازه‌گیری‌شده است. لوید و همکاران، آنژیوژنز عضلات اسکلتی را در پاسخ به تمرین بدنی برای به دست آوردن آگاهی از روند آنژیوژنز بررسی کردند. نتایج نشان داد در گروه تمرین، *VEGF* در مدت دوازده روز برای ۳ تا ۶ بار افزایش یافته است. با این حال، هیچ تغییری در گروه کنترل مشاهده نشد [۲۷].

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد در شرایط ایسکمیک و هیپوکسی، فاکتور القای هیپوکسی (HIF1) افزایش یافته است. فعال‌سازی HIF-1 سازگاری عملکردی را آغاز می‌کند (به عنوان مثال بیان ژن *VEGF*) که می‌تواند اثرات سوء قرار گرفتن در معرض هیپوکسی را کاهش دهد.

پس از ترشح، HIF-1 می‌تواند عناصر واکنش هیپوکسی (HRE) واقع در ژن‌های هدف هسته را تشخیص دهد. واکنش *HIF-1* و HRE رونویسی از ژن‌های هدف (آن‌هایی که به *VEGF* مربوط هستند) را آغاز می‌کند [۲۸].

به‌طورکلی، همان‌طور که یافته‌های حاضر نشان داد، احتمالاً هیپوکسی ناشی از تمرین دوره‌ای مسیرهای پیش آنژیوژنز را فعال می‌کند. به عنوان یک نتیجه از سازگاری با تمرین، تنظیم مجدد *VEGF* و *FGF21* به عنوان محرک‌های قوی آنژیوژنز اتفاق افتاد.

مجموعه‌ای از تحقیقات نشان دادند در بیماران قلبی، ایروبیک نسبت به سایر تمرینات روی عملکرد اندوتلیال مؤثرتر است. این تمرین‌ها توانستند گشادی عروق ناشی از جریان خون را برای ۱ تا ۵ درصد افزایش دهند [۲۹]. تمرین تناوبی به دلیل عودهای متناوب موضعی باعث افزایش تنش برشی می‌شود [۳۰].

علاوه بر این، طبق تحقیقات اخیر، شنبلیله به دلیل اثرات ضدتصلب شرایین، ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدان معروف است [۳۱]. یافته‌های پژوهشی نشان داد مصرف دانه شنبلیله همراه با ورزش شنا، علاوه بر بهبود پارامترهای دیابت، تأثیر درمانی شدیدی در کاهش کلسترول و انسداد شریان دارد [۲].

همچنین مشخص شده که افراد چاق با بافت چربی بالا باید بستر عروقی گسترده‌تری داشته باشند تا گردش خون امکان‌پذیر شود؛ بنابراین این سازگاری با تمرین و مصرف شنبلیله می‌تواند در طولانی‌مدت، تصلب شرایین را بهبود بخشد.

با این حال، نیاز به تحقیقات وسیع‌تر در این مورد وجود دارد. اگرچه هیچ تحقیق مستقیمی در مورد تأثیر شنبلیله بر آنژیوژنز وجود ندارد، اما نشان داده شده که برخی از پارامترهای آن، از جمله گروهی از فنل‌ها با وزن مولکولی پایین تأثیر ویژه‌ای در درمان بیماری‌های قلبی دارند.

علاوه بر این، مجموعه‌ای از تحقیقات به دلیل توانایی فلاونوئیدها در مهار پراکسیداسیون لیپیدها و محافظت در برابر استرس ضد اکسیداتیو، اثر ضد اکسیدانی شنبلیله را اثبات کرده‌اند. فلاونوئیدها می‌توانند برخی از مراحل آنژیوژنز مانند مهاجرت سلولی و تشکیل توبول میکرو کاپیلاری را تنظیم کنند [۳۲]. اثر شنبلیله در بهبود عملکرد هوازی حداکثر و زیر حداکثر اثبات شده است [۳۳].

همچنین، مطالعات یادشده نشان دادند عصاره شنبلیله به طور قابل توجهی شاخص آتروژنیک را کاهش می‌دهد. شنبلیله حاوی ساپونین‌های تلخی مانند پروتودیوسین است. مجموعه‌ای از تحقیقات تأثیر دیوسژنین (نوعی پروتودیوسین و دیوسین) در متابولیسم لیپیدها و گلوکز را اثبات کرده‌اند.

دیوسژنین سطح گیرنده فعال کننده پرولیفراسیون پروکسیزوم آلفا (PPARY)[15] را در بافت سفید افزایش داده و باعث تمایز سلول می‌شود و اندازه سلول‌های چربی را کاهش می‌دهد. این امر باعث افزایش ترشح آدیپونکتین می‌شود که از التهاب در سلول‌های چربی جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، دیوسژنین سطح تری‌گلیسرید و بیان mRNA را در ژن‌های لیپوژنتیک کاهش می‌دهد [۲۰].

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های حاضر می‌توان نتیجه گرفت که افزایش CV در بیان ژن *VEGF* و *FGF21* در گروه‌های تحقیقاتی احتمالاً منجر به عملکرد پیش آنژیوژنز سلول‌های اندوتلیال می‌شود. HIIT ممکن است باعث سازگاری سریع‌تر با تمرینات تناوبی هوازی در بدن شود. نتایج نشان داد ترکیبی از تمرین دوره‌ای و مصرف دانه شنبلیله موفق به افزایش CV در بیان ژن *FGF21* و *VEGF* شده و احتمالاً می‌تواند به طور مثبت بر مسیر پیش آنژیوژنز در بیماران مبتلا به انسداد شریان کرونر تأثیر مثبت بگذارد. یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر، اندازه نمونه کوچک و اندازه‌گیری شاخص‌های آنژیوژنز محدود بود. برای آگاهی از مکانیسم‌های اثر تمرین و مصرف دانه شنبلیله به طیف بیشتری از شاخص‌ها در تحقیقات نیازمندیم

ملاحظات اخلاقی

14. Chavanelle

15. Peroxisome proliferator-activated receptor Y

www.SID.ir

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پروژه تحقیقاتی توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی بابل (کد تصویب: #IR.IAU.BABOL.REC. ۱۳۹۸/۰۹۱) تأیید شده است.

حامی مالی

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

مشارکت‌نویسندگان

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

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

www.SID.ir

References

[1] Szabó K, Gesztelyi R, Lampé N, Kiss R, Remenyik J, Pesti-Asbóth G, et al. Fenugreek (Trigonella foenum-graecum) seed flour and diosgenin preserve endothelium-dependent arterial relaxation in a rat model of early-stage metabolic syndrome. International Journal of Molecular Sciences. 2018; 19(3):798. [DOI:10.3390/ijms19030798] [PMID] [PMCID]

[2] Arshadi S, Azarbayjani MA, Hajiaghaalipour F, Yusof A, Peeri M, Bakhtiyari S, et al. Evaluation of Trigonella foenum-graecum extract in combination with swimming exercise compared to glibenclamide consumption on type 2 Diabetic rodents. Food & Nutrition Research. 2015; 59:29717. [DOI:10.3402/fnr.v59.29717] [PMID] [PMCID]

[3] Kruse R, Vienberg SG, Vind BF, Andersen B, Højlund K. Effects of insulin and exercise training on *FGF21*, its receptors and target genes in obesity and type 2 diabetes. Diabetologia. 2017; 60(10):2042-51. [DOI:10.1007/s00125-017-4373-5] [PMID]

[4] Joo CH, Allan R, Drust B, Close GL, Jeong TS, Bartlett JD, et al. Passive and post-exercise cold-water immersion augments *PGC-1α* and *VEGF* expression in human skeletal muscle. European Journal of Applied Physiology. 2016;116(11-12):2315-26. [DOI: 10.1007/s00421-016-3480-1]

[5] Morland C, Andersson KA, Haugen ØP, Hadzic A, Kleppa L, Gille A, et al. Exercise induces cerebral VEGF and angiogenesis via the lactate receptor HCAR1. Nature Communications. 2017; 8:15557. [DOI:10.1038/ncomms15557] [PMID] [PMCID]

[6] Gibala MJ. [High-intensity interval training: New insights (Chinese)]. Chinese Sports Medicine. 2008; 3. https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTotal-YDYX200803031.htm

[7] Myllyharju J, Koivunen P. Hypoxia-inducible factor prolyl 4-hydroxylases: Common and specific roles. Biological Chemistry. 2013; 394(4):435-48. [DOI:10.1515/hsz-2012-0328] [PMID]

[8] Rezaei R, Nourshahi M, Bigdeli MR, Khodagholi F, Haghparast A. [Effect of eight weeks continues and HIIT exercises on *VEGF-A* and *VEGFR-2* levels in stratum, hippocampus and cortex of wistar rat brain (Persian)]. Physiology of Sport and Physical Activity. 2015; 8(2):1213-21. https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=604098

[9] Domouzoglou EM, Naka KK, Vlahos AP, Papafaklis MI, Michalis LK, Tsatsoulis A, et al. Fibroblast growth factors in cardiovascular disease: The emerging role of *FGF21*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2015; 309(6):H1029-38. [DOI:10.1152/ajpheart.00527.2015] [PMID] [PMCID]

[10] Luo Y, McKeehan WL. Stressed Liver and Muscle Call on Adipocytes with *FGF21*. Frontiers in Endocrinology. 2013; 4:194. [DOI:10.3389/fendo.2013.00194] [PMID] [PMCID]

[11] Iglesias P, Selgas R, Romero S, Díez JJ. Mechanisms In Endocrinology: Biological role, clinical significance,and therapeutic possibilities of the recently discovered metabolic hormone fibroblastic growth factor 21. European Journal of Endocrinology. 2012; 167(3):301-9. [DOI:10.1530/EJE-12-0357] [PMID]

[12] Poher AL, Altirriba J, Veyrat-Durebex C, Rohner-Jeanrenaud F. Brown adipose tissue activity as a target for the treatment of obesity/insulin resistance. Frontiers in Physiology. 2015; 6:4. [DOI:10.3389/fphys.2015.00004] [PMID] [PMCID]

[13] Chau MD, Gao J, Yang Q, Wu Z, Gromada J. Fibroblast growth factor 21 regulates energy metabolism by acti-vating the AMPK-SIRT1-PGC-1alpha pathway. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2010; 107(28):12553-8. [DOI:10.1073/pnas.1006962107] [PMID] [PMCID]

[14] Scalzo RL, Peltonen GL, Giordano GR, Binns SE, Klochak AL, Paris HL, et al. Regulators of human white adipose browning: Evidence for sympathetic control and sexual dimorphic responses to sprint interval training. PLoS One. 2014; 9(6):e90696. [DOI:10.1371/journal.pone.0090696] [PMID] [PMCID]

[15] Jeon JY, Choi SE, Ha ES, Kim TH, Jung JG, Han SJ, et al. Association between insulin resistance and impairment of *FGF21* signal transduction in skeletal muscles. Endocrine. 2016; 53(1):97-106. [DOI:10.1007/s12020-015-0845-x]

[16] Hansen JS, Pedersen BK, Xu G, Lehmann R, Weigert C, Plomgaard P. Exercise-induced secretion of *FGF21* and follistatin are blocked by pancreatic clamp and impaired in type 2 diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2016; 101(7):2816-25. [DOI:10.1210/jc.2016-1681] [PMID]

[17] Tanimura Y, Aoi W, Takanami Y, Kawai Y, Mizushima K, Naito Y, et al. Acute exercise increases fibroblast growth factor 21 in metabolic organs and circulation. Physiological Reports. 2016; 4(12):e12828. [DOI:10.14814/phy2.12828] [PMID] [PMCID]

[18] Barari A, Bashiri J, Sarabandi M. [The effect of circuit resistance training combined with ginseng supplementation level of VEGF and PDGF in inactive females (Persian)]. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services. 2015; 37(5):6-13. https://mj.tbzmed.ac.ir/Article/9821

[19] Heshmat-Ghahdarijani K, Mashayekhiasl N, Amerizadeh A, Teimouri Jervekani Z, Sadeghi M. Effect of fenugreek consumption on serum lipid profile: A systematic review and meta-analysis. Phytotherapy research. 2020; 34(9):2230-45. [DOI:10.1002/ptr.6690]

[20] Yousefi E, Zavoshy R, Noroozi M, Jahani Hashemi H, Zareiy S, Alizadeh K, et al. [Effect of oral administration of fenugreek seeds powdered on lipid profile (Persian)]. Ebnesina. 2015; 17(1):33-8. https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=482303

[21] Wani SA, Kumar P. Fenugreek: A review on its nutraceutical properties and utilization in various food products. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2018; 17(2):97-106. [DOI:10.1016/j.jssas.2016.01.007]

[22] Naghibi S, Maleki J. [The effect of exercise training on anaerobic threshold and exercise tolerance in patients with coronary artery disease (Persian)]. Social Research. 2011; 4(11):17-33. https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=259157

[23] Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Valentao P, Andrade PB, Ferreira ICFR, et al. Walnut (Juglans regia) leaves: Phenolic compound, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. Food and Chemical Toxicology. 2007; 45(11):2287-95. [DOI:10.1016/j.fct.2007.06.004] [PMID]

[24] Subasi SS, Gelecek N, Ozdemir N, Ormen M. Influences of acute resistance and aerobic exercises on plasma homocysteine level and lipid profiles. Turkish Journal of Biochemistry-Turk Biyokimya Dergisi. 2009; 34(1):9-14. https://www.researchgate.net/publication/253019662_Influences_of_acute_resistance_and_aerobic_exercises_on_plasma_homocysteine_level_and_lipid_profiles

[25] Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, Delcros G, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. Scientific Reports. 2017; 7(1):1-0. [DOI:10.1038/s41598-017-00276-8] [PMID] [PMCID]

[26] Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartlomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J. The influence of physical exercise on the generation of TGF-β1, PDGF-AA, and VEGF-A in adipose tissue. European Journal of Applied Physiology. 2011; 111(5):875-81. [DOI:10.1007/s00421-010-1693-2] [PMID] [PMCID]

www.SID.ir

[27] Lloyd PG, Prior BM, Li H, Yang HT, Terjung RL. *VEGF* receptor antagonism blocks arteriogenesis, but only partially inhibits angiogenesis, in skeletal muscle of exercise-trained rats. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2005; 288(2):H759-68. [DOI:10.1152/ajpheart.00786.2004] [PMID]

[28] Kordi MR, Nekouei A, Shafiee A, Hadidi V. [The effect of eight weeks high intensity aerobic continuous and interval training on gene expression of vascular endothelial growth factor in soleus muscle of healthy male rats (Persian)]. Arak Medical University Journal. 2015; 18(8):53-62. https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=531101

[29] Ghardashi Afousi AR, Gaeini A, Gholami Borujeni B. [The effect of aerobic interval training on endothelial vasculature function in type 2 diabetes patient (Persian)]. Iranian Journal of Rehabilitation Research. 2016; 2(3):27-39. http://ijrn.ir/article-1-215-en.html

[30] Wisloff U, Stoylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Haram PM, Tjonna AE, et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval-training versus moderate continuous training in elderly heart failure patients: 651May 31 8: 15 AM-8: 30 AM. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2007; 39(5):S32. [DOI:10.1249/01.mss.0000273010.06226.99]

[31] Emtiazy M, Oveidzadeh L, Habibi M, Molaeipour L, Talei D, Jafari Z, et al. Investigating the effectiveness of the Trigonella foenum-graecum L.(fenugreek) seeds in mild asthma: A randomized controlled trial. Allergy, Asthma & Clinical Immunology. 2018; 14:19. [DOI:10.1186/s13223-018-0238-9] [PMID] [PMCID]

[32] Nisari M, Alpa S, Yilmaz S, Inanc N. Effects of fenugreek extract on total antioxidant/oxidant status at ehrlich ascites tumor bearing mice. European Journal of Management Issues. 2020; 4(1):116-22. [DOI:10.14744/ejmi.2020.17680]

[33] Goh Zhong Sheng J. Effects of curcumin and fenugreek soluble fiber supplements on submaximal and maximal aerobic performance indices in untrained college-aged subjects [MSc. Thesis]. Kentucky: University of Kentucky; 2019. [DOI:10.13023/etd.2019.465.]

www.SID.ir

Archive of SID

This Page Intentionally Left Blank

www.SID.ir