

Research Paper  

Effect of resistance-aerobic training and mix supplementantation on angiogenic factors (VEGF and HIF-1 α) in inactive obese males

Armin Farahnak¹ , Javad Mehraani^{2*} , Hamid Arazi³

Received: October 14, 2024

Revised: December 26, 2024

Accepted: December 27, 2024

ABSTRACT

Objective: The effect of exercise training on the energy needs of muscle tissues through an adaptive increase in capillary density, resulting in greater blood supply, along with the consumption of some supplements, can improve cellular function. Combining supplements together with concurrent training is a new considerable approach. Therefore, the aim of the present study was to determine the effect of resistance-aerobic trainings and mixed supplementation (L-arginine/caffeine/L-carnitine) on vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor 1a (VEGF and HIF-1a) in inactive obese men.

Methodology: 28 inactive obese men from Rasht city (age 37.02 ± 3.89 yrs, height 1.74 ± 0.66 m, and BMI 34.04 ± 1.24 kg/m²) were randomly were divided into three groups of resistance-aerobic training/combined supplementation (n: 10), resistance-aerobic training/placebo (n: 9) and combined supplement/detraining (n: 9). Aerobic (30 min with 55-75% MHR), resistance trainings (30 min with 50-70% 1-RM) and a mixed supplement were including 1000 mg of L-arginine, 200 mg of caffeine and 1000 mg of L-carnitine that were performed during 10 weeks (3 session a week). Blood samples were collected before and after exercise training.

Results: The results of the MANCOVA test showed that the resistance-aerobic exercises training with moderate intensity along with the mixed supplement) significantly increased the blood levels of VEGF ($p=0.001$) and significantly decreased HIF1-a ($p=0.0001$) in inactive obese men.

Conclusion: In summary, the results of the present study showed that the resistance-aerobic training with moderate intensity in intraction with the mixed supplement (L-arginine/caffeine/L-carnitine) were increased angiogenic and hypoxi istimulation factors in inactive obese men.

Keywords: angiogenesis; aerobic training; strength training; arginine; caffeine

1 PhD in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, University Campus2, University of Guilan, Rasht-Iran.2 Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Guilan, Rasht-Iran.* mehrabanij@gmail.com.3 Professor of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Guilan, Rasht-Iran. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2024.28697.379>

Extended Abstract

Introduction and State of Problem

TObesity, is a primary risk factor for chronic diseases such as cardiovascular diseases. Physical exercise, particularly by reducing fat mass and increasing muscle mass, can shift this balance favorably by promoting capillary network development. Angiogenesis, the formation of new capillaries from pre-existing ones, is critically mediated by the Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Exercise acts as a potent stimulus for angiogenesis, with endurance training playing a special role through hemodynamic forces like shear stress. Conversely, high-intensity exercise can induce localized hypoxia, triggering Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α), a key transcriptional regulator of cellular adaptation to low oxygen, which in turn up-regulates VEGF. The potential synergistic effect of ergogenic aids like L-arginine, caffeine, and L-carnitine on exercise-induced angiogenesis represents a novel approach. Therefore, this study investigated the effects of combined training and a multi-ingredient supplement on HIF-1 α and VEGF in inactive obese men.

Methodology

This applied research employed a pre-test/post-test design. Twenty-eight participants (BMI >30 kg/m²) completed the study. The combined supplement contained 200 mg caffeine, 1000 mg L-carnitine, and 1000 mg L-arginine, prepared in identical capsules by a pharmaceutical laboratory. The placebo group received maltodextrin. The Exercise/Combined Supplement group consumed one supplement capsule 60 minutes before each training session. Training protocol lasted 10 weeks, with three 60-minute sessions per week. Each session comprised 30 minutes of resistance training (9 exercises, 3 sets of 10-15 reps at 50-70% of 1-RM) followed by 30 minutes of continuous treadmill running at 55-75% of maximum heart rate (monitored with a Polar H7). The principle of progressive overload was applied bi-weekly. Blood samples (10 ml) were drawn from the antecubital vein 48 h before/after the intervention. Statistical analysis was performed using SPSS v.24. Between-group comparisons were made using MANCOVA and Bonferroni post-hoc tests, with a significance level of $p < 0.05$.

Results

The results indicated a significant interaction effect (Time \times Group) for the changes in both HIF-1 α ($p = 0.001$) and VEGF ($p = 0.021$) levels, demonstrating that the impact of the intervention differed significantly among the groups (in HIF-1 α between the mixSUP and Exercise/PLB groups ($p = 0.023$); in VEGF between the mixSUP and Exercise/PLB groups ($p = 0.023$)).

Table 1. HIF-1 α and VEGF serum concentration in different groups

	Exercise/PLB (n:9)		Exercise/mixSUP (n:10)		mixSUP (n:9)	
	pre	post	pre	post	pre	post
HIF-1 α (ng/mL)	0.915 \pm 0.153	1.126 \pm 0.174	0.827 \pm 0.086	1.32 \pm 0.339	0.908 \pm 0.094	1.06 \pm 0.136
VEGF (ng/L)	333.94 \pm 37.12	340.57 \pm 42.91	333.01 \pm 41.86	356.84 \pm 21.79	335.74 \pm 28.71	339.27 \pm 49.33

Discussion and Conclusion

This study evaluated the interactive effects of a 10-week combined resistance-aerobic training program and a multi-ingredient supplement on angiogenic factors in inactive obese men. The

primary finding was a significant interaction effect, indicating that the combination of exercise and supplementation uniquely altered serum levels of both VEGF and HIF-1 α .

The observed changes can be attributed to several potential mechanisms. L-arginine likely acted as a vasodilator by increasing nitric oxide (NO) production, thereby improving blood flow and potentially stimulating angiogenesis over the long term. The vasodilatory effect of arginine may have interacted with, or even overridden, the transient vasoconstrictive properties of caffeine, ultimately facilitating enhanced perfusion and oxygen delivery to active muscle tissues. This increased metabolic demand, coupled with L-carnitine's role in fatty acid oxidation, could have created a potent stimulus for vascular adaptation.

The significant difference in VEGF between the combined intervention group and the supplement-only group underscores the indispensability of the exercise stimulus for robust angiogenic adaptation. Conversely, the difference in HIF-1 α suggests that the supplement may have potentiated the hypoxic signaling response induced by training, possibly by improving exercise performance or metabolic efficiency, allowing for a greater training stimulus.

In conclusion, a 10-week combined resistance-aerobic training synergized with a supplement containing L-arginine, caffeine, and L-carnitine to significantly modulate key regulators of angiogenesis, HIF-1 α , and VEGF, in obese men.

Originality/Value

This research is the first to investigate the synergistic effect of combined exercise and a novel multi-ingredient supplement on key angiogenic and hypoxic factors in obese men.

Research Limitations/Implications

Findings are limited by the use of serum biomarkers without direct measures of capillary density.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

Informed consent was obtained, the study protocol was approved by the institutional ethics committee, and all ethical guidelines were followed.

Funding

The authors conducted this research without external funding.

Authors' contribution

AF, JM, HA: conceptualization, AF: Preparing facilities and practical implementation of the project Methodology and Investigation; JM, AF: Data analysis, AF, JM: Writing original draft; JM: Supervision, Project administration, Review editing.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgments

We extend our gratitude to all participants and sincerely thank to Sobhandaroo Supplement Company for providing the supplements.

References

1. Damirchi A, Mehrabani J, Mousavi F. The relationship between obesity, overweight and demographic factors with physical activity in 18-69 year-old adults in Rasht City. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2013 Aug;15(4):378-86. URL: <http://ijem.sbm.ac.ir/article-1-1511-en.htm>
2. Corvera S, Solivan-Rivera J, Yang Loureiro Z. Angiogenesis in adipose tissue and obesity. *Angiogenesis*. 2022 Dec;25(4):439-53. [doi:10.1007/s10456-022-09848-3]
3. Ioannidou A, Fisher RM, Hagberg CE. The multifaceted roles of the adipose tissue vasculature. *Obesity Reviews*. 2022 Apr;23(4):e13403. [doi:10.1111/obr.13403]
4. Tryfonos A, Tzani G, Pitsolis T, Karatzanos E, Koutsilieris M, Nanas S, et al. Exercise training enhances angiogenesis-related gene responses in skeletal muscle of patients with chronic heart failure. *Cells*. 2021 Aug;10(8):1915. [doi:10.3390/cells10081915]
7. Shaw P, Dwivedi SKD, Bhattacharya R, Mukherjee P, Rao G. VEGF signaling: role in angiogenesis and beyond. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2024 Feb;1879(2):189079. [doi:10.1016/j.bbcan.2024.189079]

اثر تمرینات مقاومتی-هوازی و مکمل یاری ترکیبی بر عوامل رگ‌زایی (HIF-1α و VEGF)

آرمین فرحناک¹، جواد مهربانی^{2*}، حمید اراضی³

تاریخ پذیرش: 1403/07/23

تاریخ بازنگری: 1403/10/06

تاریخ دریافت: 1403/10/07

چکیده

هدف: اثر تمرینات ورزشی و مصرف برخی مکمل‌ها از طریق افزایش تراکم مویرگی، موجب خون‌رسانی بیشتر در بافت‌های عضلانی و بهبود عملکرد سلولی می‌شود. هدف این پژوهش، تعیین اثر تمرینات مقاومتی-هوازی همراه با مکمل‌یاری (ال-آرژنین/کافئین/ال-کارنیتین) بر فاکتورهای رگ‌زایی و حساس به هایپوکسی (VEGF و HIF-1α) در مردان چاق غیرفعال بود.

روش‌شناسی: تعداد 28 مرد چاق غیرفعال شهر رشت (سن 37/02±3/89 سال، قد 1/74±0/66 متر و 34/04±1/24 BMI) به صورت تصادفی در سه گروه تمرین مقاومتی-هوازی و مکمل ترکیبی (10 نفر)، تمرین مقاومتی-هوازی و پلاسبو (9 نفر) و مکمل بی‌تمرین (9 نفر) تقسیم شدند. تمرینات هوازی (30 دقیقه با شدت 55-75 درصد حداکثر ضربان قلب) و تمرین مقاومتی (30 دقیقه با شدت 50-70 درصد یک تکرار بیشینه) و مکمل ترکیبی شامل 1000 میلی‌گرم ال-آرژنین، 200 میلی‌گرم کافئین و 1000 میلی‌گرم ال‌کارنیتین بود که طی 10 هفته و هر هفته 3 جلسه انجام شد. پیش و پس از تمرینات، نمونه‌های خونی جمع‌آوری شد.

یافته‌ها: آزمون MANCOVA نشان داد تمرینات مقاومتی-هوازی با شدت متوسط و مصرف مکمل ترکیبی (ال-آرژنین-کافئین-ال-کارنیتین) افزایش معنی‌داری را در سطوح خونی VEGF (p=0/001) و کاهش سطوح HIF1-a (p=0/0001) در مردان چاق غیرفعال به دنبال دارد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد اجرای تمرینات مقاومتی-هوازی با شدت متوسط همراه با مصرف مکمل ترکیبی (ال-آرژنین/کافئین/ال-کارنیتین) موجب افزایش در فاکتور موثر بر رگ‌زایی و کاهش در فاکتور حساس به هایپوکسی در مردان چاق غیرفعال می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنژیوژنز، تمرین هوازی، تمرین قدرتی، آرژنین، کافئین

1 دکتر فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس دانشگاهی دانشگاه گیلان، رشت - ایران. 2. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت - ایران. * mehribanij@gmail.com. 3. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت - ایران. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- ایران.

نوآوری پژوهش و پیام کلی

ترکیب مکمل‌های ارگوژنیک همراه با تمرینات همزمان هوازی-مقاومتی، رویکرد جدیدی است که مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. مصرف مکمل‌های ارگوژنیک حاوی نیترات و کافئین موجب بهبود و افزایش عملکرد شاخص‌های مرتبط با هایپوکسی در مردان چاق غیرفعال می‌شود.



مقدمه

چاقی و اضافه وزن که به صورت چربی مازاد بدن تعریف می‌شود، از مهمترین دلایل بروز بیماری‌های مزمن مانند دیابت، پرفشاری خون، بیماری‌های قلبی-عروقی و انواع سرطان‌هاست که با تاثیر از زندگی صنعتی و ماشینی شیوع پیدا کرده است (1). با افزایش توده چربی، روند تغذیه بافتی با روند سازگاری ناشی از آتروژنز و آنژیوژنز تغییر می‌کند. چنانچه در اثر فعالیت‌های ورزشی از وزن چربی کاسته شود و توده عضلانی توسعه پیدا کند، این وضعیت به نفع توسعه شبکه مویرگی تغییر می‌یابد. به عبارتی، با افزایش رشد بافتی، آنژیوژنز بیشتر می‌شود تا نیازهای بافت به منابع غذایی و اکسیژن، تامین شود (2). آنژیوژنز روند رشد و تکثیر مویرگ‌های جدید از مویرگ‌های موجود است و شامل مراحل از جمله تحریک و تخریب غشای پایه مویرگ اصلی و تشکیل و ساخت غشای جدید است (3). در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)¹ به عنوان میانجی اصلی رگ‌زایی چه در وضعیت توسعه کارکردهای سلولی ناشی از تمرینات ورزشی و چه ابتلای به بیماری‌های مزمن مطرح است. تمرین ورزشی به عنوان یک محرک برای فرآیندهای آنژیوژنز، آتروژنز، رشد مویرگی، تراکم مویرگی و ظرفیت اکسایشی به شمار می‌رود. به ویژه تمرینات استقامتی در بروز چنین حالتی نقش ویژه‌ای دارد (4). این وضعیت با اثرات نیروهای داینامیک ناشی از فشار برشی و فشار و کشش بر دیواره عروق منجر به مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال می‌شود (5). همچنین، به نظر می‌رسد مصرف مواد غذایی از جمله مکمل‌های انترژیټیک مثل آرژنین و کافئین که بتوانند در تغییر جریان خون بافتی نقش داشته باشد، بر این روند، اثر دارد. همچنین، گزارش شده تمرین هوازی می‌تواند بر اثر مهار مصرف مکمل کوئرستین بر آنژیوژنز غلبه کند و افزایش تراکم مویرگی را به همراه دارد (6). VEGF برای اولین بار، در دهه 1980 براساس مکانیسم عمل و اهداف سلولی آن در ابتدا به عنوان فاکتور نفوذپذیری عروقی نام‌گذاری شد (7)، در سال ۱۹۸۸ میلادی به نام واسکوتروپین شناخته شد و در سال 1989 میلادی VEGF را نام‌گذاری شد (8) که به عنوان یک محرک یا بازدارنده رشد سلول اندوتلیال عمل می‌کند (7). اعضای خانواده VEGF به گیرنده‌های خود متصل می‌شوند که باعث دایمر شدن گیرنده و فسفوریلاسیون خودکار تیروزین کینازهای سیتوپلاسمی می‌شود و آبشارهای سیگنالینگ داخل سلول از جمله پاسخ‌های سه‌گانه ایسکمیک، هایپوکسیک و بروز التهاب را که برنامه‌های مختلف رگ‌زایی از جمله جوانه زدن و دو نیم شدن طولی را استخراج می‌کنند، فعال می‌کند (9). این وضعیت تحت تاثیر متالوپروتئازهای غشای اندوتلیال که باعث تجزیه غشای پایه شده و همچنین اینتگرین‌ها به عنوان پروتئین‌های اتصالی در تعامل با آنژیوپوئیتین قرار دارد (8،9). VEGF در واسکولوژنز، رگ‌زایی و لنفاژینوژنز در طی رشد جنینی و بعد از تولد نقش دارد و همچنین در عملکردهای مختلفی در طی روند بزرگسالی از جمله آنژیوژنز تخمدان، بازسازی بافت، بقای سلول‌های بنیادی خونساز و تنظیم اریتروپوئیتین برای تحریک روند خون‌سازی در اثر سازگاری به تمرینات ورزشی طولانی مدت نقش دارد (9).

¹ Vascular endothelial growth factor



از سویی، فعالیت ورزشی به‌ویژه اگر با شدت بالا انجام شود، می‌تواند به عنوان یک عامل هایپوکسیک موجب اختلال در روند اکسیژن‌رسانی بافتی شود که مکانیزم دفاعی آن، تحریک آنژیوژنز و افزایش تراکم مویرگی در بافت‌های فعال است. در چنین شرایطی فاکتورهای حساس به هایپوکسی (HIFs)¹ وارد عمل می‌شود. خانواده HIFs، تنظیم‌کننده‌های رونویسی حساس به اکسیژن و میانجی بازسازی کمبود اکسیژن سلولی و میکرو محیطی عمل می‌کند (10). زیر واحد HIF- α حساس به اکسیژن است و در شرایط هایپوکسیک به سرعت تخریب می‌شود (10). سه ایزوفرم عمده زیر واحد α وجود دارد، 1α ، 2α و 3α . HIF1 α و HIF2 α عمدتاً به عنوان فعال‌کننده رونویسی عمل می‌کنند و چندین فرآیند بیولوژیکی مانند آنژیوژنز، گلوکز، اسید چرب، کلسترول و متابولیسم و التهاب میتوکندری را تنظیم می‌کنند (11). در واقع، با کمبود اکسیژن، HIF- α به عناصر پاسخ‌دهنده هایپوکسی متصل می‌شود تا بیان ژن تنظیم شده با هایپوکسی را القا کند. در بروز این وضعیت، تمرینات ورزشی و استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد، نقش دارند. اخیراً، محققان با استفاده از سیستم‌های مدل حیوانی، گزارش کردند که بیان HIF-1 α مخصوص سلول‌های چربی، فنوتیپ‌های دیابتی را با التهاب و فیبروز بافت چربی تشدید می‌کند. علاوه بر این، از دست دادن HIF-1 α در سلول‌های چربی به طور قابل توجهی التهاب مرتبط با چاقی را کاهش می‌دهد و حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد (10). در شرایط کمبود اکسیژن، HIF-1 α توسط پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن با فعال‌سازی مسیر MAPK در شرایط هایپراسموز و استرس اکسیداتیو، تثبیت و فسفوریله می‌شود. در واقع، مهار ژنتیکی انتخابی HIF-1 α در سلول‌های چربی منجر به کاهش فیبروز بافت چربی و التهاب و افزایش حساسیت انسولین در موش‌ها می‌شود (12). فعالیت‌های ورزشی منظم آثار متفاوتی به‌همراه دارد. تمرینات مقاومتی با ایجاد هایپوکسی موضعی، به نظر می‌رسد تاثیر بیشتری بر تغییرات سطوح HIF-1 α دارد، هرچند با توجه به اعمال فشار مکانیکی بر سطح مقطع عضلانی، احتمالاً می‌تواند بر عامل تکثیر مویرگی یعنی VEGF نیز موثر باشد (13)؛ هرچند مطالعات گوناگون تاثیرگذاری بیشتر تمرینات استقامتی هوازی در مقایسه با تمرینات مقاومتی روی این عامل را نشان داده‌اند؛ اما این نکته که آیا مصرف مکمل‌هایی که روی جریان خون محیطی و عملکرد غشای اندوتلیال موثر هستند می‌توانند بر عوامل رشد و تکثیر عروقی و افزایش تراکم مویرگی تاثیرگذار باشند، یک رویکرد جدید درباره عملکرد سلولی است که مورد توجه پژوهشگران قرار دارد. بر این اساس و با توجه به این که مصرف کافئین، ال-آرژنین و ال-کارنتین به‌طور همزمان در پژوهش‌های پیشین مورد ارزیابی و بررسی قرار نگرفته است، هدف پژوهش حاضر بررسی آثار تعاملی ده هفته تمرین مقاومتی-هوازی و مکمل‌یاری ترکیبی ال-کارنتین، کافئین و ال-آرژنین بر HIF-1 α و VEDF خون در مردان چاق غیرفعال بود.

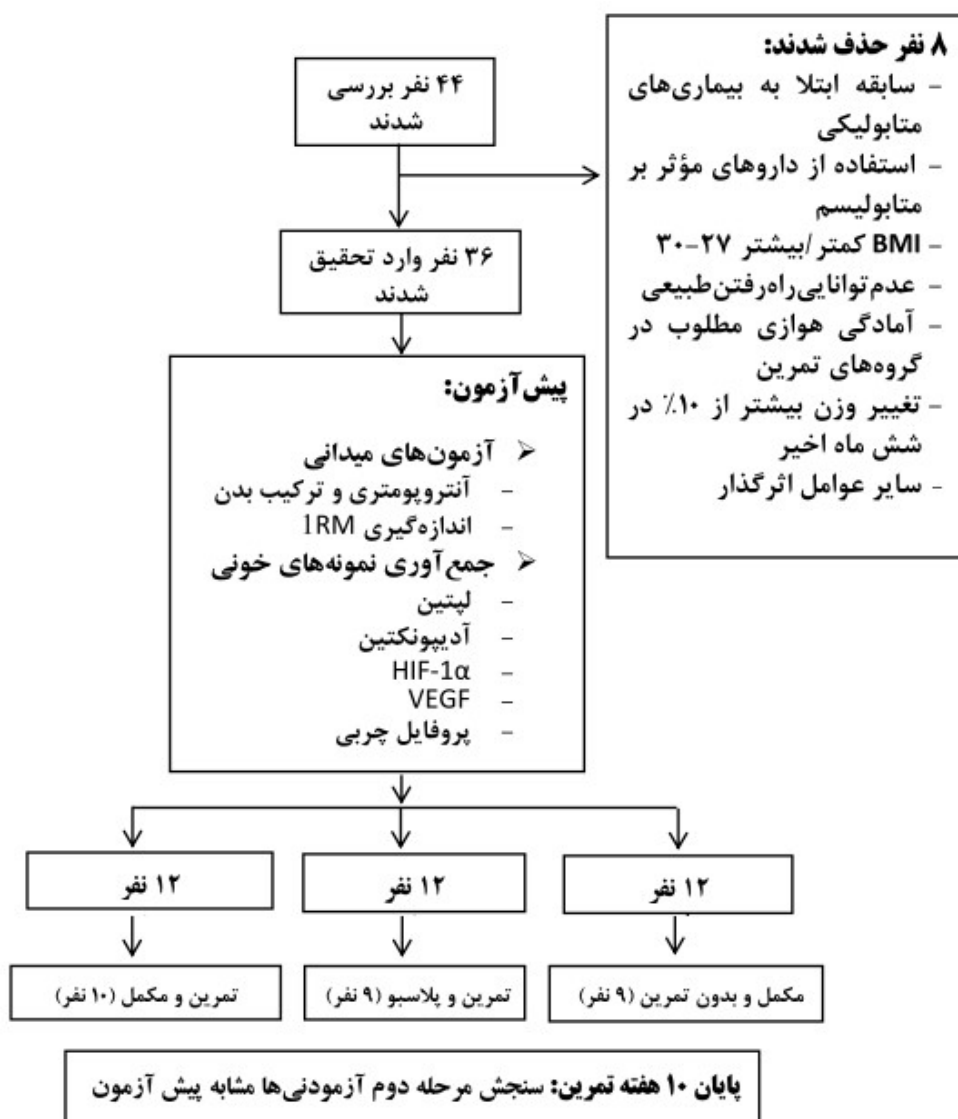
روش‌شناسی

در این پژوهش کاربردی که با طرح پیش‌آزمون-پس‌آزمون روی مردان چاق غیرفعال شهر رشت اجرا شد، پس از اعلام فراخوان شرکت، در یک جلسه خطرات و فواید احتمالی و مراحل اجرا تشریح شد و آزمودنی‌ها فرم رضایت‌نامه آگاهانه، پرسشنامه وضعیت تندرستی و پزشکی-ورزشی را دریافت کردند. سپس از بین 44 فرد چاق داوطلب و با کمک نرم افزار G-Power تعداد 36 آزمودنی که شرایط شرکت در پژوهش را داشتند، به صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند که در پایان تعداد 28 نفر مطالعه را به پایان رساندند: 1) تمرین/مکمل ترکیبی (10 نفر)، 2) تمرین/پلاسبو (9 نفر) و 3) مکمل ترکیبی (9 نفر) تقسیم شدند. معیارهای ورود شامل BMI بالاتر از 30

¹ Hypoxia-inducible factor-1 alpha



(کیلوگرم/مترمربع)، عدم شرکت در برنامه‌های ورزشی منظم طی یک سال گذشته و عدم هرگونه سابقه مصرف الکل، سیگار، مواد مخدر، هورمون‌ها و مکمل‌های تغذیه‌ای طی سه ماه قبل از برنامه و سابقه ابتلا به بیماری‌های کبدی، کلیوی، فشار خون، دیابت و اختلالات جسمی - حرکتی بود. افرادی که بیش از سه جلسه در تمرینات حضور پیدا نکرده بودند یا به هر دلیلی تمایل به ادامه تمرینات نداشتند، از روند پژوهش خارج شدند. ترکیب بدن برای سنجش وزن، درصد چربی بدن، شاخص توده بدن با دستگاه ارزیاب InBody 0.3 ساخت کشور کره جنوبی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. قد آزمودنی‌ها نیز با کمک قدسنج دیجیتال مدل Seca اندازه‌گیری شد.



شکل 2. فلوجارت روند انتخاب آزمودنی‌ها و گروه‌بندی

تهیه مکمل‌ها

کپلت‌های هم‌رنگ حاوی کافئین خالص از شرکت مرک آلمان با شماره کالا 2584 و شماره کد 947 k13176384 (200 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ال-کارنتین از شرکت کارنیبولیکسو با شماره کالا



8699469970058 (1000 میلی گرم) و ال-آرژنین از شرکت مرک آلمان (1000 میلی گرم) خریداری شد. کپلت مکمل ترکیبی (کافئین 200 میلی گرم + ال-کارنتین 1000 میلی گرم + ال-آرژنین 1000 میلی گرم) در آزمایشگاه شرکت داروسازی سبحان رشت در شرایط استریل با استفاده از ترازوی دیجیتالی با حساسیت 0/001 تهیه شد. روز آزمون کپلت‌ها به همراه یک لیوان آب، نیم ساعت قبل از آزمون به شرکت کننده‌ها داده شد.

آزمودنی‌های گروه اول، به مدت 10 هفته روزانه 60 دقیقه قبل از تمرینات ورزشی، 1 عدد مکمل ترکیبی که حاوی 200 میلی گرم کافئین و 1000 میلی گرم ال-کارنتین و 1000 میلی گرم ال-آرژنین بود همراه با یک لیوان آب مصرف کرده و سپس تمرینات مقاومتی و هوازی تداومی روی تردمیل را انجام دادند. گروه دوم در همین مدت از پلاسبو (مالتودکسترین) استفاده کرده و تمرینات ترکیبی مقاومتی-هوازی مانند گروه اول انجام دادند. آزمودنی‌های گروه سوم، روزانه یک عدد مکمل ترکیبی مانند گروه اول مصرف کردند و هیچ‌گونه تمرین ورزشی انجام ندادند. ترکیب بدن با روش سنجش چگالی جکسون و پولاک و معادله سیری اندازه‌گیری و محاسبه شد. شدت تمرین هوازی بر اساس درصدی از ضربان قلب بیشینه (HRmax)¹ بود و 1-RM هم با معادله برزیسکی اندازه‌گیری و محاسبه شد:

$$1\text{-RM (kg)} = \frac{\text{وزن (kg)}}{1 - (0.02 \times \text{تعداد تکرارهای ممکن})}$$

تمرین مقاومتی - هوازی

برنامه تمرینات متشکل از 10 هفته، 3 جلسه در هفته و هر جلسه شامل 60 دقیقه شامل 30 دقیقه تمرین مقاومتی با شدت 50-70 درصد یک تکرار بیشینه و 30 دقیقه دویدن روی تردمیل با شدت 55-75 درصد حداکثر ضربان قلب (پولار مدل H7 ساخت فنلاند) بود. در دو هفته اول (سه جلسه در هفته) زمان و شدت فعالیت ثابت بود تا با تمرینات مقاومتی سازگاری پیدا کنند و کوفتگی و آسیب عضلانی به حداقل برسد (14). آزمودنی‌ها در این مرحله آماده‌سازی، 1 ست 10 تکراری پرس پا، پرس سینه، پرس سرشانه را با 50٪ 1-RM اجرا کردند.

هر جلسه تمرین با 5 دقیقه حرکات کششی شروع شد. تمرینات مقاومتی شامل 9 حرکت به ترتیب پرس پا، زیربغل سیم‌کش از پشت، پشت ران ماشین خوابیده، پرس سینه هالتر، سرشانه با دستگاه از جلو، ساق پا ایستاده، جلو بازو سیم‌کش، دراز و نشست با دستگاه، فیله کمر دستگاه بود که در سه ست 10-15 تکراری، با فواصل استراحت یک دقیقه بین ست‌ها و 3 دقیقه بین ایستگاه‌ها انجام شد. برای اعمال اضافه بار، هر دو هفته آزمون‌های مربوط به عملکرد عضلات بر اساس حرکات انجام شده و عملکرد هوازی بر مبنای درصدی از ضربان قلب بیشینه، صورت می‌گرفت. پروتکل تمرینات مقاومتی-هوازی در جدول 1 نشان داده شده است.

جدول 1. پروتکل تمرین مقاومتی-هوازی

هفته	تمرین هوازی (2)		تمرین مقاومتی (1)	
	زمان (دقیقه)	شدت (MHR%)	شدت (1-RM%)	ست / تکرار
1	30 دقیقه دویدن تداومی روی تردمیل	55	50	10/1
		55	50	
		60	50	
		60	55	
		65	60	
		65	60	

¹ Heart rate maximum

	12/1	65	70		7
		65	70		8
	15/1	70	75		9
		70	75		10

خون گیری

در 48 ساعت پیش از شروع برنامه و در پایان هفته دهم، از ورید بازویی آزمودنی‌ها در حالت نشسته نمونه خونی به میزان 10 سی‌سی اخذ شد و پس از سانترفیوژ، نمونه‌ها برای انجام آزمایش به آزمایشگاه منتقل و تا زمان آنالیز در دمای -70°C درجه سانتی‌گراد در نگهداری شد. برای اندازه‌گیری غلظت VEGF از کیت‌های ELISA ساخت کمپانی باستر آمریکا و به روش الایزا با حساسیت یک پیکوگرم/میلی‌لیتر استفاده شد. سطح سرمی HIF-1 α به روش ایمنونواسی آنزیمی و با استفاده از کیت الایزا (ساخت شرکت Cusabio چین) مخصوص نمونه‌های انسانی و طبق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. ضریب حساسیت 15/6 پیکوگرم/میلی‌لیتر بود.

روش آماری

در بخش آمار توصیفی از میانگین و انحراف معیار استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک تعیین شد. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون MANCOVA و بونفرونی استفاده شد. تحلیل آماری در سطح $p < 0/05$ و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 24 انجام شد.

یافته‌ها

ویژگی‌های آنتروپومتریک و ترکیب بدن آزمودنی‌ها در جدول 2 نشان داده شده است.

جدول 2. ویژگی‌های آنتروپومتریک و ترکیب بدن آزمودنی‌ها (میانگین \pm انحراف معیار)

مکمل ترکیبی (9 نفر)	تمرین/مکمل ترکیبی (10 نفر)	تمرین/پلاسبو (9 نفر)
36/44 \pm 8/69	36/3 \pm 4/11	38/33 \pm 8/2
سن (سال)		
174/23 \pm 5/06	175/76 \pm 4/97	174/12 \pm 4/69
قد (سانتی‌متر)		
113/11 \pm 15/47	100/61 \pm 11/28	99/08 \pm 11/95
وزن (کیلوگرم)		
36/74 \pm 5/65	33/28 \pm 2/67	32/1 \pm 1/66
شاخص توده بدن (مترمربع/کیلوگرم)		
33/31 \pm 4/17	32/85 \pm 3/85	33/43 \pm 3/18
چربی بدن (درصد)		

در جدول 3 اطلاعات توصیفی مربوط به سطوح HIF-1 α و VEGF در مردان چاق ارائه شده است.

جدول 3. سطوح HIF-1 α و VEGF (میانگین \pm انحراف معیار)

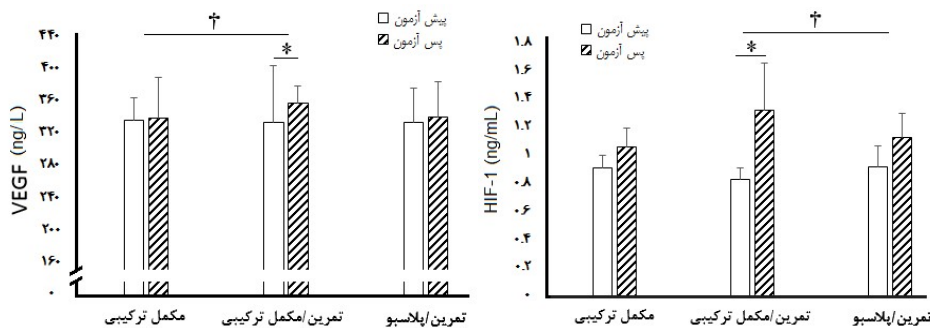
مکمل ترکیبی (9 نفر)		تمرین/مکمل ترکیبی (10 نفر)		تمرین/پلاسبو (9 نفر)		
پیش‌آزمون	پس‌آزمون	پیش‌آزمون	پس‌آزمون	پیش‌آزمون	پس‌آزمون	
0/908 \pm 0/094	1/06 \pm 0/136	0/827 \pm 0/086	1/32 \pm 0/339	0/915 \pm 0/153	1/126 \pm 0/174	HIF-1 α (ng/mL)
335/74 \pm 28/71	339/27 \pm 49/33	333/01 \pm 41/86	356/87 \pm 21/79	333/94 \pm 37/12	340/57 \pm 42/91	VEGF (ng/L)

در خصوص تغییرات سطوح HIF-1 α ($p=0/001$) و VEGF ($p=0/021$)، نتایج درباره اثر (زمان - گروه) نشان داد بین آثار تمرین ورزشی و مصرف مکمل ترکیبی، تفاوت معنی داری وجود دارد (جدول 4). محل تفاوت در شکل 2، نشان داده شده است. نتایج بین گروه‌های تمرین/مکمل ترکیبی با تمرین/پلاسبو در سطوح HIF-1 α ($p=0/023$) و تمرین/مکمل ترکیبی با مکمل ترکیبی در سطوح VEGF ($p=0/023$) تفاوت معنی داری را نشان داد.

جدول 4. نتایج مربوط به آزمون MANCOVA (3 \times 2) برای HIF-1 α و VEGF

تغییرات	مجموع مجذورات	Df	میانگین مجذورات	F	P	اندازه اثر
HIF-1 α	زمان	1	0/115	4/08	*0/045	0/145
	تعامل زمان/گروه	2	0/203	3/59	*0/043	0/230
	خطا	24	0/679	0/028	-	-
VEGF	زمان	1	165/39	1/72	*0/002	0/167
	تعامل زمان/گروه	2	875/79	4/55	*0/021	0/275
	خطا	24	2308/32	96/18	-	-

* اختلاف معنی داری در سطح $p<0/05$



شکل 2. سطوح HIF-1 α و VEGF (میانگین \pm انحراف معیار). (*) تغییر معنی دار پس از آزمون نسبت به پیش از آزمون؛ (†) تفاوت معنی دار بین گروه‌ها ($p<0/05$)

بحث

در این پژوهش اثر تعاملی تمرینات مقاومتی-هوازی و مکمل یاری ترکیبی ال-آرژنین، کافئین و ال-کارنیتین بر عوامل رگ‌زایی (VEGF و HIF-1 α) در مردان چاق غیرفعال مورد ارزیابی قرار گرفت. که یافته‌ها نشان داد سطوح VEGF و HIF-1 α پس از ده هفته اعمال مداخله و در اثر مصرف مکمل ترکیبی به طور معنی داری تغییر کرده بود.

این نکته که مصرف آرژنین می‌تواند با افزایش باز شدگی عروق، جریان مواد غذایی و متابولیت‌ها به بافت عضلانی را تسهیل کند و در بلندمدت آنژیوژنز را تحریک کند، دارای اهمیت است. تغییر در سطوح VEGF و HIF-1 α در این مطالعه نشان داد که احتمالاً اثر وازودیلاتوری آرژنین در کنار یا در تعارض با اثر تحریک کنندگی کافئین، توانسته روند آنژیوژنز را تحریک کرد، جریان خون به بافت‌ها را بیشتر کند و در نتیجه با فعال سازی مکانیزم اثر نیتریک اکساید، نیازهای انرژی بافت عضلانی به ویژه اکسیژن رسانی را از مسیر لیپولیز و بتااکسیداسیون در تعامل با ال-کارنیتین تامین کند. در این بین HIF به عنوان فاکتور حساس به کمبود یا افزایش اکسیژن، واسطه بازسازی کمبود اکسیژن

سلولی است که در فعالیت‌های هوازی و سازگاری به آن به طور ویژه‌ای نقش دارد (10). از سویی، تمرینات ترکیبی در کنار آثار رشدی مکمل‌ها که منجر به هایپرتروفی سارکوپلاسمیک می‌شوند، احتمالاً موجب افزایش توده عضلانی شده چون در کنار تمرینات هوازی، برنامه تمرینات مقاومتی هم اجرا شده و تاثیر آن بر افزایش سطح مقطع و سازگاری‌های هایپرتروفیک عضله و افزایش میزان متابولیسم استراحتی، مورد تایید قرار گرفته است. گزارش شده مکمل ال-آرژنین با افزایش سطح نیتریک اکساید سبب افزایش قدرت و استقامت عضلانی شده است (15). در چنین شرایط سازگارانهای، افزایش در سطح مقطع عضلات به دلیل افزایش نیاز بافتی به منابع انرژی به ویژه اکسیژن رسانی و متعادل‌سازی متابولیت‌های تولیدی، نیاز به افزایش تراکم مویرگی در سطح غشای بافت‌ها دارد که با افزایش در مقادیر پایه می‌تواند دلیلی برای آنژیوژنز در بافت‌های تحریک شده برای رشد بیشتر از طریق تمرینات ورزشی منظم مقاومتی و هوازی و همچنین مصرف مکمل‌های ارگوژنیک که رشد سطح مقطع عضلات و نیاز میتوکندری به اکسیژن و افزایش روند خون‌رسانی به بافت‌ها را در پی دارند، مطرح کرد (16). این نکته در تغییر عوامل و شاخص‌های آنژیوژنیک مانند VEGF و HIF-1 α در اثر اجرای ده هفته تمرین ترکیبی و مصرف مخلوطی از مکمل‌ها وجود دارد که مصرف آرژنین احتمالاً موجب افزایش سطح NO شده و این نیتریک اکساید است که نقش اصلی و اساسی در تکثیر سلول‌های اندوتلیال بازی می‌کند و میانجی مهمی برای برخی از مواد محرک رشد اندوتلیوم مانند VEGF و پروستاگلاندین‌ها به شمار می‌رود (17).

یکی دیگر از دلایل افزایش فاکتورهای رشد آندوتلیال در این مطالعه، به همزمانی تمرینات مقاومتی و هوازی و افزایش تدریجی شدت آنها در طول ده هفته بر می‌گردد. مطالعات نشان داده‌اند تمرین منظم ممکن است موجب افزایش ظرفیت در سلول‌های اندوتلیوم مویرگ‌های انتهایی در تولید و ترشح VEGF شود (18). با اجرای تمرینات ورزشی، به‌ویژه تمرینات مقاومتی، مقادیر فاکتورهای رشدی از جمله فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1)، فولیستاتین و کاهش بیان و ترشح مایوستاتین در فرایند رگ‌زایی موثر هستند (19). این عوامل، احتمالاً در اثر افزایش سطح مقطع عضلانی، استرس هایپوکسیک ناشی از اثر تمرین مقاومتی به ویژه در فاز اکسنتریک اجرای حرکت، گرسنگی سلولی و استرس متابولیکی ناشی از اسیدوز بافتی و نیاز به انرژی برای تولید انقباضات شدید و تکراری است. احتمالاً می‌توان اظهار کرد که آزاد سازی و تولید بیشتر VEGF در ورزشکارانی که تمرین مقاومتی انجام می‌دهند ممکن است موجب افزایش سطح مقطع و تعداد مویرگ‌ها در بافت عضلانی آنها شود. همچنین نتایج دیگر پژوهش‌ها نشان داده تراکم VEGF و HIF-1 α در نتیجه سازگاری به تمرینات ورزشی افزایش داشته است و احتمالاً تمرینات ورزشی به ویژه اگر به شکل ترکیبی انجام شود و همراه با آن مکمل‌هایی که می‌تواند بر خون‌رسانی به بافت‌ها موثر است و روند و چرخه متابولیسم را تغییر و افزایش می‌دهد، مصرف شود، در توسعه شبکه مویرگی، تعادل بین عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک را به سمت عوامل آنژیوژنیک و آتروژنیک تغییر می‌دهد (20). دلیل این حالت می‌تواند آثار هایپوکسیک تمرینات هوازی برای تحریک HIF-1 α و افزایش سطح مقطع بافتی ناشی از تمرینات مقاومتی و هوازی باشد که تحت تاثیر افزایش VEGF قرار می‌گیرد.

تمرینات ورزشی سبب فعال شدن چندین سازوکار در بدن می‌شود که در اثر آن میزان سنتز، ترشح و افزایش فعالیت VEGF افزایش می‌یابد که نتیجه آن افزایش متابولیسم هوازی و تغییر و شیفت مسیر انرژی به سمت مصرف سازه‌های لیپیدی از جمله اسیدهای چرب می‌شود. روند رگ‌زایی و اکسیژن رسانی به بافت‌ها در این شرایط بهتر می‌شود. در وضعیت طبیعی VEGF در غشای پایه و در ماتریکس خارج سلولی زیر اندوتلیال عروق وجود دارد و با حضور پپتیدهای پیام‌رسان از غشا جدا می‌شود. احتمالاً اثر تحریکی این دو مدل تمرین در مطالعه حاضر یا ترکیب کافئین و آرژنین توانسته تحریک لازم را برای افزایش ظهور این عامل رشدی در عروق ایجاد کند. در چنین شرایطی افزایش



سطح متابولیسم پایه موجب تغییر مسیر مصرف انرژی به سمت منابع چربی زیرجلدی می‌رود که نتیجه آن کاهش توده چربی و بهبود ترکیب بدن است (21). این یک انتظار درست از تمرینات ترکیبی است. این نوع تمرینات در اثر نتایج بخش تمرینات مقاومتی، نیروی انقباضی عضله و میزان نیاز انرژی پایه را افزایش می‌دهد و در فاز هوازی موجب افزایش متابولیسم چربی، بایوژنز میتوکندری و مصرف بیشتر سوپسترای چربی است. در چنین حالتی، حفظ توده عضلانی و کاهش توده چربی می‌شود که بهبود ترکیب بدن را به همراه دارد. مصرف ال-کارنیتین و کافئین در بهبود ترکیب بدن نقش دارند. این مکمل‌ها با افزایش تحریک و انتقال سوپسترای چربی به بافت عضلانی و درون میتوکندری در کنار برنامه تمرین منظم ترکیبی، در روند بهبود ترکیب بدن نقش دارند (22).

نتیجه‌گیری کلی و پیام مقاله

با توجه به یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که اجرای همزمان تمرینات مقاومتی-هوازی و مصرف مکمل ترکیبی ال-آرژنین-کافئین و ال-کارنیتین می‌تواند منجر به افزایش در سطوح VEGF و HIF-1a در افراد بزرگسال چاق غیرفعال گردد. اجرای تمرینات ورزشی مقاومتی و هوازی همراه با مصرف این مکمل‌ها احتمالاً موجب تحریک غشای اندوتلیال و افزایش کارکردهای هوازی و بی‌هوازی درون سلولی برای افزایش تراکم مویرگی طی ده هفته فشار تمرینی و اثر ارگوژنیک و آنژیوژنیک مکمل‌ها بوده است.

محدودیت‌ها

یافته‌ها برگرفته شده از مقادیر سرمی متغیرها است و بررسی فعالیت‌های درون سلولی می‌توانست به درک بهتر نتایج کمک کند.

پیشنهاد برای مطالعات آتی

ارزیابی مکانیزم‌های هورمونی موثر و فعالیت‌های درون سلولی مرتبط، برای مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی

ضمن رعایت اصول اخلاق در پژوهش، رضایت‌نامه شرکت در آزمون از آزمودنی‌ها دریافت شد.

منابع مالی

برای اجرای این پژوهش، هیچ‌گونه حمایت مالی دریافت نشده است.

مشارکت نویسندگان

آف، ج، ح؛ معرفی موضوع و طراحی پروتکل، روش‌شناسی؛ آف: آماده‌سازی امکانات و شرایط و اجرای عملی پروژه؛ آف، ج، م؛ آنالیز آماری داده‌ها؛ آف، ج، م؛ نوشتن پیش‌نویس مقاله؛ ج، م؛ راهنمایی و مدیریت پروژه، اصلاح نهایی و ارسال مقاله

تعارض منافع

در این مقاله هیچ‌گونه تضاد و تعارض منافی برای نویسندگان وجود ندارد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان از کلیه افرادی که در این پژوهش شرکت کردند تشکر می‌کنند.

References

1. Damirchi A, Mehrabani J, Mousavi F. The relationship between obesity, overweight and demographic factors with physical activity in 18-69 year-old adults in Rasht City. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2013 Aug;15(4):378-86. URL: <http://ijem.sbm.ac.ir/article-1-1511-en.htm>

2. Corvera S, Solivan-Rivera J, Yang Loureiro Z. Angiogenesis in adipose tissue and obesity. *Angiogenesis*. 2022 Dec;25(4):439-53. [doi:10.1007/s10456-022-09848-3]
3. Ioannidou A, Fisher RM, Hagberg CE. The multifaceted roles of the adipose tissue vasculature. *Obesity Reviews*. 2022 Apr;23(4):e13403. [doi:10.1111/obr.13403]
4. Tryfonos A, Tzanis G, Pitsolis T, Karatzanos E, Koutsilieris M, Nanas S, et al. Exercise training enhances angiogenesis-related gene responses in skeletal muscle of patients with chronic heart failure. *Cells*. 2021 Aug;10(8):1915. [doi:10.3390/cells10081915]
5. Kretschmer M, Rüdiger D, Zahler S. Mechanical aspects of angiogenesis. *Cancers*. 2021 Oct;13(19):4987. [doi:10.3390/cancers13194987]
6. Esteghlal S, Mokhtari MJ, Beyzaei Z. Quercetin can inhibit angiogenesis via the down regulation of MALAT1 and MIAT lncRNAs in human umbilical vein endothelial cells. *International Journal of Preventive Medicine*. 2021 Jul;12:59. [doi:10.4103/ijpvm.IJPVM_333_19]
7. Shaw P, Dwivedi SKD, Bhattacharya R, Mukherjee P, Rao G. VEGF signaling: role in angiogenesis and beyond. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2024 Feb;1879(2):189079. [doi:10.1016/j.bbcan.2024.189079]
8. Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, Sanzo K, Warren T, Feder J, et al. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science*. 1989 Dec;246(4935):1309-12. [doi:10.1126/science.2479987]
9. Ho QT, Kuo CJ. Vascular endothelial growth factor: biology and therapeutic applications. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2007 Jul;39(7-8):1349-57. [doi:10.1016/j.biocel.2007.01.034]
10. McConell GK. Effects of L-arginine supplementation on exercise metabolism. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2007 Jan;10(1):46-51. [doi:10.1097/MCO.0b013e32801162fa]
11. Poblete JMS, Ballinger MN, Bao S, Alghothani M, Hinojosa L, Gurney T, et al. Macrophage HIF-1 α mediates obesity-related adipose tissue dysfunction via interleukin-1 receptor-associated kinase M. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2020 May;318(5):E689-E700. [doi:10.1152/ajpendo.00412.2019]
12. Gaspar JM, Velloso LA. Hypoxia inducible factor as a central regulator of metabolism - implications for the development of obesity. *Frontiers in Neuroscience*. 2018 Nov;12:813. [doi:10.3389/fnins.2018.00813]
13. Sun K, Halberg N, Khan M, Magalang UJ, Scherer PE. Selective inhibition of hypoxia-inducible factor 1 α ameliorates adipose tissue dysfunction. *Molecular and Cellular Biology*. 2013 Mar;33(5):904-17. [doi:10.1128/MCB.01498-12]
14. Vital TM, Stein AM, de Melo Coelho FG, Arantes FJ, Teodorov E, Santos-Galduróz RF. Physical exercise and vascular endothelial growth factor (VEGF) in elderly: a systematic review. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2014 Sep;59(2):234-9. [doi:10.1016/j.archger.2014.04.011]
15. Gambardella J, Fiordelisi A, Spigno L, Boldrini L, Lungonelli G, Di Vaia E, et al. Effects of chronic supplementation of L-arginine on physical fitness in water polo players. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021 Mar;2021:6684568. [doi:10.1155/2021/6684568]
16. Burke R, Piñero A, Coleman M, Mohan A, Sapuppo M, Augustin F, et al. The effects of creatine supplementation combined with resistance training on regional measures of muscle hypertrophy: a systematic review with meta-analysis. *Nutrients*. 2023 May;15(9):2116. [doi:10.3390/nul5092116]
17. Rey S, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodelling. *Cardiovascular Research*. 2010 May;86(2):236-42. [doi:10.1093/cvr/cvq045]
18. Ho TK, Abraham DJ, Black CM, Baker DM. Hypoxia-inducible factor 1 in lower limb ischemia. *Vascular*. 2006 Nov;14(6):321-7. [doi:10.2310/6670.2006.00055]
19. Rashti BA, Mehrabani J, Damirchi A, Babaei P. The influence of concurrent training intensity on serum irisin and abdominal fat in postmenopausal women. *Przegląd Menopauzalny*. 2019 Sep;18(3):166-73. [doi:10.5114/pm.2019.90377]
20. Lindholm ME, Rundqvist H. Skeletal muscle hypoxia-inducible factor-1 and exercise. *Experimental Physiology*. 2016 Jan;101(1):28-32. [doi:10.1113/EP085318]
21. Nantakool S, Punturee K, Konghakote S, Sitthichoke C, Phirom K, Chuatrakoon B. Immediate effects of aerobic exercise and whole-body vibration on fat oxidation, lipid mobilization, and cardiovascular



- response in individuals with obesity. *Journal of Clinical Medicine*. 2023 Jan;13(1):44. [doi:10.3390/jcm13010044]
22. Sousa-Silva R, Cholewa JM, Pessôa KA, Xia Z, Lauver JD, Rossi FE, et al. Creatine supplementation combined with blood flow restriction training enhances muscle thickness and performance: a randomized, placebo-controlled, and double-blind study. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2023 Jun;48(6):417-26. [doi:10.1139/apnm-2022-0309]