

## Association of Different HIF1- $\alpha$ and VEGF Gene Genotypes with Changes in Aerobic Capacity Following Moderate-Intensity Endurance Training in Inactive Women -A Pilot Study

Parviz Shojaei <sup>1</sup>  · Mehran Ghahramani <sup>2</sup>  · Sirous Farsi <sup>3</sup> 

1. Department of Exercise Physiology, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran. E-mail: [p.shojaei@iaub.ac.ir](mailto:p.shojaei@iaub.ac.ir)
2. Corresponding Author, Department of Exercise Physiology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. E-mail: [m.ghahramani@iauksh.ac.ir](mailto:m.ghahramani@iauksh.ac.ir)
3. Department of Exercise Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran. E-mail: [S.farsi@miau.ac.ir](mailto:S.farsi@miau.ac.ir)

### Article Info

#### Article type:

Research Article

#### Article history:

Received:

4 January 2022

Received in revised form:

23 May 2022

Accepted:

23 May 2022

Published online:

22 September 2022

#### Keywords:

*Aerobic power,*

*Angiogenesis,*

*Genotype,*

*HIF1- $\alpha$ ,*

*VEGF.*

### ABSTRACT

**Introduction:** This research aimed to investigate the relationship between HIF1- $\alpha$  and VEGF gene genotypes and changes in aerobic capacity following eight weeks of moderate-intensity endurance training in inactive women.

**Methods:** Twenty-three inactive women aged 34 to 43 years old were conveniently selected and performed aerobic training for eight weeks and five 30-minute sessions per week with an intensity of 55% to 75% of maximum heart rate. Before and after the training period, aerobic capacity was measured by the Bruce test. A saliva sample was taken and different genotypes of the HIF1- $\alpha$  gene including CC and different genotypes of the VEGF gene including GG, CG, and CC were measured. Statistical methods of Paired t-test and ANOVA were used to observe mean differences in aerobic capacity and the Restriction Fragment Length Polymorphism (RLFP) method was used to check genotypes.

**Results:** The results of changes in the aerobic capacity of the subjects and investigation of the relationship between the different genotypes of VEGF and HIF1- $\alpha$  genes following eight weeks of moderate-intensity endurance training, the aerobic capacity of CC and CT genotypes of the HIF1- $\alpha$  gene were equal pre and post-intervention ( $p=0.529$ ). Also, GG, CC, and CG genotypes of the VEGF gene were equal to the CG genotype ( $p=0.873$ ). The CT genotype of the HIF1- $\alpha$  gene has the most increase, but this increase was not significant.

**Conclusion:** Therefore, Eight weeks of moderate-intensity endurance training increases the aerobic capacity of HIF1- $\alpha$  and VEGF gene profiles in inactive obese women, but the changes in aerobic capacity of these gene profiles are not significant.

**Cite this article:** Shojaei, P; Ghahramani, M; Farsi, S. (2022). Association of Different HIF1- $\alpha$  and VEGF Gene Genotypes with Changes in Aerobic Capacity Following Moderate-Intensity Endurance Training in Inactive Women -A Pilot Study. *Journal of Sport Biosciences*, 14 (2), 189-199. DOI: <http://doi.org/10.22059/jsb.2022.336857.1504>



© The Author(s).

Publisher: University of Tehran, Faculty of Sport Sciences and Health.

## Extended Abstract

### Introduction

The role of regular endurance training in health has been well proven, which is a strong stimulus for cardiovascular and muscular adaptations and increases aerobic power (VO<sub>2</sub>max). Concerning the effect of endurance activities on the induction of hypoxia and the subsequent process of angiogenesis, studies often point to the positive effect of endurance activities on the induction of hypoxia and angiogenesis. The present study is related to the different genotypes of VEGF and HIF1- $\alpha$  genes, which includes CC and CT genotypes of the HIF1- $\alpha$  gene, and CG, CC, and GG genotypes of the VEGF gene and their relation with changes in aerobic capacity after eight weeks of moderate-intensity endurance training. The mentioned genes have been studied in inactive obese women, so this study aimed to investigate the relationship between different genotypes of HIF1- $\alpha$  and VEGF genes and changes in aerobic capacity following eight weeks of aerobic exercise in inactive obese women.

### Methods

Twenty-three inactive women aged 34 to 43 (mean height:  $157 \pm 2.8$  cm, mean weight:  $74 \pm 1.8$  kg, mean age:  $38 \pm 5.4$  years, mean BMI:  $32 \pm 2.4$  kg/m<sup>2</sup>) were conveniently selected. Participants performed aerobic training for 8 weeks and five 30-minute sessions per week with an intensity of 55% to 75% of the maximum heart rate. Also, ten minutes were spent on warm-up and ten minutes on cool-down. Before and after the training period (moderate intensity endurance training), participants' aerobic capacity was measured by the Yervoy-Bruce treadmill test. Also, participants' saliva samples were taken and sent to the laboratory under special conditions to identify the different genotypes of the HIF1- $\alpha$  genes including CC and CT, and the different genotypes of the VEGF gene including GG, CG, and CC. Paired t test and ANOVA test were used to check the changes in mean aerobic power and the RLFP method was used to check the aforementioned genotypes.

### Results

The results of the treadmill test for investigating the aerobic capacity changes of the participants and investigating the relationship between different genotypes of VEGF and HIF1- $\alpha$  genes after eight weeks of moderate-intensity endurance training concerning the CC and CT genotypes of the HIF1- $\alpha$  gene revealed that changes in aerobic capacity of CT genotype are equal to ( $p=0.529$ ). Investigating the aerobic capacity changes of GG, CC, and CG genotypes of the VEGF gene showed that the aerobic capacity change of the CG genotype is equal to ( $p=0.873$ ). After comparing the aerobic capacity changes of different genotypes of the mentioned genes, it was confirmed that the CT genotype of the HIF1- $\alpha$  gene has the most increase in aerobic capacity, but this increase was not significant.

### Conclusion

In this experimental study, investigated the relationship between different gene profiles of HIF1- $\alpha$  and VEGF genes and changes in aerobic capacity following eight weeks of moderate-intensity endurance training in inactive women, and considering the importance of capillary formation in Hypoxic conditions and increase in blood oxygen uptake and therefore increase in aerobic capacity (VO<sub>2</sub>max) investigating the role of different genotypes of VEGF and

HIF1- $\alpha$  concerning changes in aerobic capacity following moderate intensity endurance training is very important. it was concluded that eight weeks of moderate-intensity endurance training leads to an increase in aerobic capacity concerning the gene profiles of HIF1- $\alpha$  and VEGF genes in inactive obese women, but these changes in aerobic capacity concerning the aforementioned gene profiles were not significant. Since this experimental study was conducted for the first time, to draw more accurate conclusions, investigations with more participants, more duration of moderate-intensity endurance training, and more sessions per week are required.

### Ethical Considerations

**Compliance with ethical guidelines:** The study was approved by the Ethics Committee of the Borujerd Branch of Islamic Azad University, With Ethics Code: IR.IAU.B.REC.1399.008.

**Funding:** This study was not supported by any funding, and Research costs are paid for by Student.

**Authors' contribution:** Design and conceptualization: Mehran Ghahramani and Parviz Shojaei, Methodology and data analysis: Parviz Shojaei, Supervision and final writing: Mehran Ghahramani and Parviz Shojaei and Sirous Farsi.

**Conflict of interest:** The authors declared no conflicts of interest regarding the publication of the present article.

**Acknowledgments:** Thanks and appreciation are offered to all colleagues and researchers who helped us with this article.

## بررسی رابطه ژنوتیپ های مر تبط با ژن های HIF1- $\alpha$ و VEGF با تغییرات توان هوازی به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط در زنان غیر فعال - مطالعه آزمایشی

پرویز شجاعی<sup>۱</sup>، مهران قهرمانی<sup>۲</sup>، سیروس فارسی<sup>۳</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران. رایانامه: [p.shojaei@iaub.ac.ir](mailto:p.shojaei@iaub.ac.ir)

۲. نویسنده مسئول، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: [m.ghahramani@iauksh.ac.ir](mailto:m.ghahramani@iauksh.ac.ir)

۳. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران. رایانامه: [S.farsi@miau.ac.ir](mailto:S.farsi@miau.ac.ir)

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	<b>مقدمه:</b> هدف از پژوهش بررسی رابطه ژنوتیپ های مر تبط با ژن های HIF1- $\alpha$ و VEGF با تغییرات توان هوازی به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط در زنان غیر فعال بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۴	<b>روش پژوهش:</b> ۲۳ زن غیر فعال ۳۴ تا ۴۳ ساله به صورت غیر هدفمند در دسترس انتخاب و ۸ هفته تمرین هوازی هر هفته ۵ جلسه و هر جلسه ۳۰ دقیقه با شدت ۵۵٪ تا ۷۵٪ ضربان قلب بیشینه انجام دادند. قبل و بعد از دوره تمرین، توان هوازی توسط آزمون برووس اندازه گیری شد. نمونه بزاقی اخذ و ژنوتیپ های مختلف ژنهای HIF1- $\alpha$ شامل CC و ژنوتیپ های مختلف ژن VEGF شامل GG، CG و CC اندازه گیری شد، از روشهای آماری تی زوجی و آنوا برای تغییرات میانگین های توان هوازی و برای بررسی ژنوتیپ ها از روش RLFP استفاده شد.
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۳/۰۲	<b>یافته ها:</b> نتایج تغییرات توان هوازی آزمودنی ها و بررسی رابطه ژنوتیپ های مختلف ژنهای VEGF و HIF1- $\alpha$ به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط در ارتباط با ژنوتیپ های CC و CT و ژن HIF1- $\alpha$ در ژنوتیپ CT برابر با (P=۰/۵۲۹) و ژنوتیپ های GG و CC و CG ژن VEGF ژنوتیپ CG برابر با (P=۰/۸۷۳) بوده که ژنوتیپ CT ژن HIF1- $\alpha$ بیشترین افزایش را داشته اما این افزایش معنا دار نبوده است.
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۲	<b>نتیجه گیری:</b> هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط موجب افزایش توان هوازی در رابطه با پروفایل های ژنی ژن های HIF1- $\alpha$ و VEGF در زنان غیر فعال چاق شده اما تغییرات توان هوازی در ارتباط با پروفایل های ژنی ژن های مزبور معنا دار نمی باشد.
تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۶/۳۱	
<b>کلیدواژه ها:</b> توان هوازی، آنژیوزن، ژنوتیپ، HIF1- $\alpha$ ، VEGF	

**استناد:** شجاعی، پرویز؛ قهرمانی، مهران؛ و فارسی، سیروس. (۱۴۰۱). بررسی رابطه ژنوتیپ های مر تبط با ژن های HIF1- $\alpha$  و VEGF با تغییرات توان هوازی به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط در زنان غیر فعال - مطالعه آزمایشی. *علوم زیستی ورزشی*، ۲(۱۴)، ۱۸۹-۱۹۹.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jsb.2022.336857.1504>



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه تهران، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی.

## مقدمه

چاقی توسط سازمان بهداشت جهانی به عنوان قابل مشاهده ترین مشکل بهداشت عمومی در سراسر جهان شناخته شده است (۱). همچنین چاقی یکی از عوامل مهم در بسیاری از بیماری‌های خطرناک در جهان است که به عنوان یک عامل مستقل موجب افزایش مرگ و میر در جهان می‌شود (۲). آثار متابولیک چاقی، این عارضه بسیار شایع را به عنوان یکی از مهم ترین عوامل خطرناک برای بیماری‌هایی مانند دیابت، فشارخون، بیماری‌های شریان کرونر قلبی و آرترو اسکروز مطرح ساخته است (۳).

از سوی دیگر فعالیت ورزشی سبب افزایش متابولیسم و کاهش چاقی می‌شود (۳ و ۴). هنگام انجام ورزش های استقامتی به علت درگیر بودن عضلات فعال نیاز بیشتری به اکسیژن وجود دارد بنا بر این هموستاز سلول دچار اختلال می‌شود و در این حالت هایپوکسی اتفاق می‌افتد و در این موقعیت عامل القای هایپوکسی ( $HIF1-\alpha$ ) که یک فاکتور رونویسی DNA است و از دو زیر واحد تشکیل شده است تثبیت و هایپوکسی تنظیم می‌شود در این حالت  $HIF1-\alpha$  به هسته رفته و با  $HIF1-\beta$  هترو دایمر می‌شود و موجب فعال شدن VEGF می‌شود (۵). در فرایندهای رگ زایی، گلبول های قرمز در متابولیسم دخیل هستند و باعث می‌شود  $HIF1-\alpha$  یک ژن موثر در ایجاد  $VO_{2max}$  قبل و بعد از تمرینات هوازی می‌باشد (۶). در شرایطی که اکسیژن کافی در دسترس سلول نباشد هایپوکسی موجب بیان عامل القای هایپوکسی ( $HIF1-\alpha$ ) شده و به دنبال آن بیان عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) می‌شود، و رگ زائی شامل رشد مویرگ‌های جدید در عضله است و با تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال همراه است و به دو صورت جوانه زدن و یا دو نیم شدن مویرگ‌های موجود صورت می‌گیرد (۷). عامل رشد اندوتلیوم عروقی (VEGF) که دارای سه ژنوتیپ  $CC$ ,  $CG$ ,  $GG$  می‌باشد به منزله قویترین و مهمترین عامل مؤثر در آنژیوژنز بوده و باعث افزایش مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال و تشکیل شبکه عروقی می‌شود و برای تمایز سلول‌های اندوتلیال و جوانه زدن مویرگ‌های جدید از عروق قلبی (آنژیوژنز) ضروری است (۸). فاکتور القایی هایپوکسی ( $HIF1-\alpha$ ) که دارای دو ژنوتیپ  $CC$ ,  $CT$  می‌باشد می‌تواند رونویسی چندین ژن از جمله عامل رشد اندوتلیوم عروقی (VEGF) و اریتروپوئیتین را فعال نماید. بنابراین VEGF یک ژن هدف برای  $HIF1-\alpha$  است که نشان داده شده در پاسخ به فقدان اکسیژن در آزمایشگاه و در داخل بدن به صورت مثبت تنظیم می‌شود (۷ و ۹). در صورت کاهش مقدار اکسیژن بین سلولی، فعالیت‌های آنزیمی پرولیل هیدروکسیلازا مهار می‌شود و این شرایط به رونویسی هسته ای و شکل گیری هترو دایمر فعال  $HIF1-\beta$  منجر می‌شود که به طور اساسی در رونویسی عوامل ژنی سازگار با هایپوکسی شامل آنژیوژنز، گلیکولیز، خون سازی و کاتکولامین‌ها نقش دارد (۱۰). بنابراین  $HIF1-\alpha$  و VEGF سیگنال دهنده‌های ضروری برای حفظ و نگهداری چگالی عروقی و تأمین اکسیژن در هایپوکسی بافتی می‌باشند (۷ و ۱۱).

نقش ورزش استقامتی منظم در سلامتی به خوبی اثبات شده است که محرکی قوی برای سازگاری‌های قلبی عروقی و عضلانی است و افزایش توان هوازی ( $VO_{2max}$ )، سوخت و ساز، افزایش عملکرد ورزشی، کاهش استفاده از کربوهیدرات و اتکا به چربی، بهتر شدن عملکرد انسولین، کاهش فشارخون در بیماران قلبی و پرفشاری خونی می‌شود (۱۲). در ارتباط با تأثیر فعالیت استقامتی بر فرایند آنژیوژنز، قبلاً مطالعات گسترده‌ای انجام شده است که اغلب به تأثیر مثبت فعالیت‌های استقامتی بر آنژیوژنز اشاره دارد (۱۳ و ۱۴). همچنین هنگام تمرینات ورزشی، هایپوکسی اتفاق می‌افتد و هایپوکسی ممکن است موجب افزایش سطوح میوگلوبین شود (۱۴). همچنین، رابطه مثبت و معناداری بین تمرین و نیروی کشش دیده شده است (۱۵). تمرین باعث افزایش نیتریک اکساید در عضله قلبی بیماران قلبی می‌شود که اتساع کننده عروقی قوی است (۱۶). همچنین، تمرین می‌تواند یک محرک فیزیولوژیک برای رهایی سلول‌های پیش ساز اندوتلیال از مغز استخوان محسوب شود (۱۷ و ۱۸).

مهمترین سازوکار مطرح در رابطه با بهبود عملکرد اندوتلیال در اثر تمرین ورزشی، افزایش عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) است (۱۸). تمرین ورزشی استقامتی با ایجاد هایپوکسی در عضلات اسکلتی موجب افزایش بیان ژن VEGF می‌شود و نقش مهم

این شاخص در فراخوانی و لانه‌گزینی سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در عروق خونی ثابت شده است (۱۹ و ۹۶). علاوه بر این در حیوانات آزمایشگاهی تغییرات  $VEGF$ -mRNA را در شرایط ورزش هوازی و بی‌هوازی سنجیده‌اند و به این نتیجه دست یافتند که هر دو فعالیت منجر به افزایش سطوح  $VEGF$ -mRNA می‌شود (۲۰).

همچنین ژنوتیپ‌های مختلف ژن  $VEGF$  شامل  $GG$ ,  $CG$ ,  $CC$  و ژن  $HIF1-\alpha$  دارای دو ژنوتیپ  $CT$ ,  $CC$  می‌باشد ممکن است منجر به پاسخ‌های متفاوتی به تغییرات توان هوازی به دنبال تمرینات ورزشی استقامتی بشود. فعالیت بدنی فنوتیپ پیچیده‌ای است که متأثر از میلیون‌ها عامل محیطی و ژنتیکی بوده و از مدت‌ها قبل مشخص شده است که تنوع در عملکرد جسمانی و توانایی ورزشی دارای اجزای بسیار قوی ژنتیکی است (۲۱). توسعه روش‌های تعیین توالی DNA و ژنوتیپ این امکان را فراهم کرده است تا برخی تنوع‌های ژنتیکی فردی که بیانگر عملکرد ورزشی است، شناسایی شود (۲۲). با توجه به دو رشته‌ای بودن DNA و مکمل بودن دو رشته، هرگونه جا به جایی در یک رشته تغییری در رشته دیگر و بازهای مکمل ایجاد خواهد کرد. انسان‌ها همچون سایر یوکاریوت‌ها دارای دو مجموعه مطابق کروموزومی یا به عبارتی دیپلوئید هستند. موجودات دیپلوئید روی هر مجموعه کروموزومی ژن‌های یکسانی دارند اما توالی این ژن‌ها ممکن است روی دو کروموزوم جفت متفاوت باشد، اگر هر دو آلل یک ارگانسیم دیپلوئیدی یکی باشد برای آن آلل خاص هموزیگوت گفته می‌شود و اگر دو آلل متفاوت باشند هتروزیگوت گفته می‌شود. غالباً فراوانی یکی از این دو آلل در جمعیت بیش از دیگری است و آلل با فراوانی کمتر باید حداقل در ۱٪ از افراد جمعیت دیده شود. در صورتی که فراوانی یک آلل کمتر از ۱٪ باشد به آن جهش گفته می‌شود (۲۳). اولین شواهد مستحکم تأثیر ژنتیک بر عملکرد جسمانی بر گرفته از نتیجه مطالعات بر روی دوقلوهای همسان به منظور تخمین وراثت‌پذیری و عوامل مرتبط با آمادگی جسمانی و توان هوازی و عملکرد قلبی عروقی بوده است (۲۴ و ۲۵). بررسی و شناسایی ژن‌های مرتبط با عملکرد جسمانی با توجه به نقش و تأثیر این ژن‌ها در برخی از شاخص‌های سلامتی (مانند قلبی عروقی)، ارزش بررسی آنها را بیشتر نمایان کرده است (۲۵). با این حال تاکنون مطالعه‌ای به بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های مختلف ژن‌های  $VEGF$  و  $HIF1-\alpha$  با تغییرات توان هوازی به دنبال هشت هفته تمرینات ورزشی استقامتی پرداخته نشده است. لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی ارتباط تغییرات توان هوازی ژنوتیپ‌های مختلف ژن‌های  $VEGF$  و  $HIF1-\alpha$  به دنبال هشت هفته تمرینات استقامتی با شدت متوسط در زنان غیر فعال چاق بود.

## پیشینه پژوهش

تمرینات ورزشی استقامتی می‌تواند توان هوازی را با دامنه تأثیر بسیار گسترده‌ای در انسان افزایش دهد (۲۶).

## تحقیقات خارجی

لوند بای و همکاران در پژوهش خود نتیجه‌گیری کرده‌اند که در انسان ژن‌ها و آنزیم‌های مختلف موجب مهار فسفوریلیشن می‌شود که یک عامل تعیین‌کننده کلیدی برای ظرفیت استقامت بالا و توان هوازی ( $VO_{2max}$ ) است و به حداکثر ظرفیت انتقال اکسیژن مرتبط است و این به نوبه خود بستگی به حداکثر برون‌ده قلبی دارد که در قلب ورزشکار افزایش می‌یابد و ظرفیت انتقال اکسیژن خون را تنظیم می‌کند (۵).

## تحقیقات داخلی

فرهادی و همکاران در پژوهشی به بررسی تأثیر هشت هفته (پنج روز در هفته) تمرین هوازی با سرعت ۲۲ تا ۲۶ متر در دقیقه دویدن روی تردمیل با شیب ۶ درجه درموش‌های صحرایی (نر) در ۴ گروه ۱۰ تایی: کنترل سالم، هایپوکسی، تمرین هوازی، تمرین هوازی توام با هایپوکسی) پرداختند. در این پژوهش  $PI3K/Akt$  و  $VEGF$  و  $HIF1-\alpha$  بررسی شدند. نتایج حاکی از افزایش معنادار

این فاکتورها در هر سه گروه تمرین و هایپوکسی و تمرین همراه با هایپوکسی به نسبت گروه کنترل بود اما بین سه گروه تجربی تفاوت معناداری دیده نشد (۱۲).

### روش شناسی پژوهش

پژوهش حاضر از نوع نیمه تجربی و به شکل آزمایشگاهی و میدانی انجام شد. از میان مراجعه کنندگان مرکز حرکت و تندرستی تهران، ۲۳ زن ۳۴ تا ۴۳ ساله غیر فعال (قد  $1.57 \pm 0.08$  سانتی متر، وزن  $1.8 \pm 0.74$  کیلو گرم، سن  $38 \pm 5.4$  سال، شاخص توده بدنی  $2.4 \pm 22$  کیلو گرم بر متر مربع) در دسترس انتخاب شدند. یک هفته قبل از آغاز پروتکل تمرینی برای اطمینان از وضعیت سلامتی آزمودنی‌ها و عدم سابقه بیماری قلبی، عروقی، دیابت، بیماری‌های عفونی، آلرژی مصرف سیگار یا هر نوع دارو و مکمل، پرسشنامه پزشکی سلامت مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، رضایت‌نامه کتبی از تمامی آزمودنی‌ها جهت شرکت در پژوهش اخذ شد. آزمودنی‌ها، تمرینات ورزشی را به مدت ۸ هفته، هر هفته ۵ جلسه و هر جلسه ۳۰ دقیقه با شدت ۵۵٪ تا ۷۵٪ درصد ضربان قلب بیشینه انجام دادند. بدین ترتیب که آزمودنی‌ها در دو هفته اول با ۵۵٪ تا ۶۰٪ ضربان قلب بیشینه و در دو هفته دوم با ۶۰٪ تا ۶۵٪ ضربان قلب بیشینه و ۴ هفته باقی مانده تا پایان دوره تمرین با ۶۵٪ تا ۷۵٪ ضربان قلب بیشینه تمرین کردند. برای هر جلسه ده دقیقه گرم کردن و ده دقیقه سرد کردن در نظر گرفته شده بود و ضربان قلب شرکت کنندگان توسط ضربان سنج پولار مدل (پوکس ۱۰۰۰) ساخت کشور ژاپن کنترل شد. کنترل دقیق تغذیه امکان پذیر نبود و از آزمودنی‌ها خواسته شد تا از رژیم غذایی معمولی خود پیروی کنند. ۲۴ ساعت قبل و ۲۴ ساعت بعد از دوره تمرین، توان هوازی تمام آزمودنی‌ها اندازه گیری شد. آزمون برووس طبق دستور العمل اجرائی جهت اندازه گیری توان هوازی یا  $VO_{2max}$  استفاده شد که  $VO_{2max}$  از Met به دست آمده از انجام آزمون برووس بر روی تردمیل تقسیم بر  $3/5$  حاصل گردید. همچنین ۲۴ ساعت قبل از دوره تمرین در وضعیت استراحتی (قبل از انجام آزمون برووس) و در وضعیت ۲۴ ساعت بعد از اتمام پروتکل نمونه بزاق از تمامی آزمودنی‌ها جمع آوری شد و به آزمایشگاه ژن ورز مرکز رشد وابسته به دانشگاه تربیت مدرس تهران برای بررسی و تشخیص ارسال شد و نمونه‌ها در دمای  $-20$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA از نمونه بزاقی به روش salting out صورت گرفت. تکنیک Tetra ARMS PCR روشی ساده و کم‌هزینه جهت تعیین ژنوتیپ می‌باشد که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. Tetra - ARMS PCR نسبت به غلظت‌های مواد واکنش دهنده، از جمله  $MgCl_2$ ، بسیار حساس می‌باشد به طوری که اگر غلظت آن کم شود، باندهای غیر اختصاصی ظاهر می‌شوند. در این تکنیک از چهار پرایمر در یک تیوب PCR به ترتیب از روش Tetra - ARMS PCR استفاده شده و نتایج ژنوتیپ‌های ژن  $HIF1-\alpha$  و VEGF در جداول زیر مشخص شدند.

### مراحل ست آپ کردن پرایمر.

الف: در یک میکرو تیوب استریل  $0.2$  میلی لیتر مواد زیر افزوده می‌شود.

جدول ۱. مقدار مواد مورد نیاز در مرحله اول ست آپ کردن پرایمر	
۷/۵ میکرو لیتر	Master mix 2X[ amplicon]
۰/۸ میکرو لیتر	پرایمر بالا دست (5pM)
۰/۸ میکرو لیتر	پرایمر پائین دست (5pM)
۱ میکرو لیتر	DNA
۵ میکرو لیتر	آب دیو نیزه

ب: میکرو تیوب در دستگاه ترمال سایکلر گذاشته می شود و PCR بر اساس شرایط زیر اجرا می گردد.

جدول ۲. شرایط اجرای PCR

مرحل	دما (درجه سانتی -گراد)	زمان	تعداد سیکل
دنا تورا سیون اولیه	۹۴ درجه سانتیگراد	۷ دقیقه	۱
دنا تورا سیون	۹۴ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	
Annealing	۶۰ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	۲۵
Extention	۷۲ درجه سانتیگراد	۶۰ ثانیه	
Final Extention	۷۲ درجه سانتیگراد	۷ دقیقه	۱

ج: پس از اتمام واکنش ۳ میکرو لیتر از محصول PCR جهت اطمینان از تکثیر بهینه بر روی ژل آگارز ۱ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۳. توالی پرایمر های مورد استفاده جهت بررسی پلی مورفیسم ها

ژن	وضعیت	توالی پرایمر
VEGF	F: 5	ATCATGCGGATCAAACCTCACC 3;
	R: 5	GGTCTGCATTACATCTGCTATGC 3, generating an 80 bp DNA fragment
HIF1- $\alpha$	F: 5	ATGACCACTGCTAAGGCATCAGC 3
	R: 5	AGGTAAAGGCTCCTTGGATGAGC 3, generating a 119 bp DNA fragment

و به دنبال آن ژنوتیپ‌ها به کمک ژل الکتروفورز تعیین شدند. در این تکنیک از استراتژی جفت باز ناجور استفاده می شود تا واکنش PCR، تکثیر آل خاصی را نشان دهد. جهت طراحی پرایمرها، توالی‌های ژنومیک ژن VEGF و ژن HIF1- $\alpha$  به همراه توالی اطراف ناحیه پلی مورفیک مورد نظر از سایت اینترنتی NCBI گرفته شد.

سپس به کمک نرم افزار طراحی پرایمر و سرویس اطلاعاتی که در سال ۲۰۱۲ توسط کالیس و کی معرفی شد و در سایت‌های اینترنتی <http://primer1.soton.ac.uk/primer1.html> موجود است، پرایمرهای داخلی و خارجی Tetra ARMS PCR طراحی شدند. به منظور انجام الکتروفورز بر روی نمونه‌ها، ژل آگارز ۲ درصد در بافر TBE تهیه شد. سپس هر نمونه از محصول PCR را با ۲ میکرو لیتر لودینگ بافر مخلوط کرده و درون چاهک‌ها ریخته شد. در اولین چاهک نیز از Ladder DNA 100bp مناسب استفاده گردید و تانک به منبع تغذیه طوری متصل شد که چاهک‌ها به سمت قطب منفی قرار گیرند. بدین ترتیب به مدت ۴۰ دقیقه با ولتاژ ۹۸ ولت، نمونه‌ها الکتروفورز شدند. لازم به ذکر است که پس از استخراج DNA از بزاقت به منظور تأیید کیفیت DNA استخراج شده و همچنین پس از انجام تکنیک Tetra-ARMA PCR به منظور تعیین ژنوتیپ، از دستگاه تصویر برداری از ژل استفاده گردید. جهت تجزیه و تحلیل آماری، ابتدا داده‌ها با استفاده از میانگین و انحراف معیار توصیف شدند و سپس جهت مقایسه توان هوازی بین ژنوتیپ‌های مختلف، از آنجا که سه ژنوتیپ GG، CG و CC ژن VEGF و دو ژنوتیپ CC و CT از ژن HIF1- $\alpha$  را داشتیم، از روش آماری تحلیل تی استیودنت و واریانس یک راهه مستقل در سطح  $P \leq 0.05$  استفاده شد. از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ نیز جهت انجام محاسبات آماری استفاده شد.

## یافته‌های پژوهش

همان طور که مشاهده می‌شود، بین توان هوازی ژنوتیپ‌های مختلف CC و CG و GG ژن VEGF هم قبل از تمرین، هم بعد از تمرین و هم میزان تغییرات از قبل تا بعد از تمرین آنها تفاوت معنادار نبود (به ترتیب  $P=0/663$  و  $P=0/873$  و  $P=0/173$ ). هر چند تا حدی مقدار میانگین تغییرات توان هوازی ژنوتیپ GG بعد از ۸ هفته تمرین هوازی نسبت به دو ژنوتیپ دیگر بیشتر بود. از آزمون تی استیوننت برای بررسی تغییرات توان هوازی ژنوتیپ‌های CT و CC ژن HIF1- $\alpha$  استفاده شد، نتایج نشان داد که تفاوت‌ها بین توان هوازی ژنوتیپ‌های CT و CC ژن HIF1- $\alpha$  هم قبل از تمرین، هم بعد از تمرین و هم میزان تغییرات در جدول‌های ۳ و ۴ نشان داده شده و نتایج (به ترتیب  $P=0/079$  و  $P=0/114$ ) بوده، هر چند تا حدی مقدار میانگین تغییرات توان هوازی ژنوتیپ CT ژن HIF1- $\alpha$  بعد از ۸ هفته تمرین هوازی نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر ژن‌های VEGF و HIF1- $\alpha$  بیشتر بوده اما این تفاوت معنادار نبوده است ( $P=0/079$ ).

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های توان هوازی (میلی لیتر بر کیلو گرم در دقیقه) پیش آزمون پروفایل‌های ژنی VEGF

ژنوتیپ	تعداد	انحراف معیار $\pm$ میانگین	میزان آماره F	سطح معناداری
GG	۹	۲۸/۶۷ $\pm$ ۵/۰۳	۰/۰۴۳	۰/۶۶۳
CG	۹	۳۰/۷۵ $\pm$ ۷/۲۷		
CC	۵	۲۸/۲۱ $\pm$ ۲/۱۸		

جدول ۵. مقایسه میانگین‌های توان هوازی (میلی لیتر بر کیلو گرم در دقیقه پس آزمون پروفایل‌های ژنی VEGF

ژنوتیپ	تعداد	انحراف معیار $\pm$ میانگین	میزان آماره F	سطح معناداری
GG	۹	۳۶/۸۲ $\pm$ ۵/۲۹	۰/۱۳۷	۰/۸۷۳
CG	۹	۳۵/۶۷ $\pm$ ۷/۷۵		
CC	۵	۳۴/۹۲ $\pm$ ۲/۰۱		

جدول ۶. مقایسه میانگین‌های توان هوازی (میلی لیتر بر کیلو گرم در دقیقه) پیش آزمون پروفایل‌های ژنی HIF1- $\alpha$ 

ژنوتیپ	تعداد	انحراف معیار $\pm$ میانگین		میزان آماره t	درجه آزادی	سطح معناداری
		همگنی واریانسها	مقدار آماره F			
CC	۱۷	۲۹/۰۶ $\pm$ ۶/۰۹	۲۰۱۳	۰/۲۷۰	۲۱	۰/۰۷۹
CT	۶	۲۸/۸۸ $\pm$ ۷/۰۸	۰/۱۵۹			



جدول ۷. مقایسه میانگین های توان هوازی ( میلی لیتر بر کیلو گرم در دقیقه) پس از مون پروفایل های ژنی  $HIF1-\alpha$ 

ژنوتیپ	تعداد	انحراف معیار $\pm$ میانگین	همگنی واریانسها		میزان آماره t	درجه آزادی	سطح معناداری
			آماره F	مقدار معناداری			
CC	۱۷	۳۵/۴۵ $\pm$ ۷/۷	۱/۳۷	۰/۲۵۴	-۰/۶۱۷	۲۱	۰/۵۴۴
CT	۶	۳۷/۴ $\pm$ ۵/۱۴					

جدول ۸. نتایج تفاوت تغییرات میانگین توان هوازی پروفایل های ژنی  $VEGF$  و  $HIF1-\alpha$ 

ژنوتیپ	Genotypes	تعداد	انحراف معیار $\pm$ میانگین	میزان آماره F	سطح معناداری
VEGF	GG	۹	۸/۶ $\pm$ ۰/۶۴/۴	۱/۶۳	۰/۱۸۳
	CG	۹	۴/۳ $\pm$ ۹۲/۴۷		
	CC	۵	۶/۷ $\pm$ ۷۱/۳		
HIF1a	CC	۱۷	۵/۳ $\pm$ ۸۴/۴۷		
	CT	۶	۸/۳ $\pm$ ۵۲/۲۵		

## بحث

بر اساس یافته‌های پژوهش آزمایشی حاضر با توجه به آزمایشی بودن مطالعه، توان هوازی تمامی ژنوتیپ‌ها از قبل تا بعد از دوره تمرین افزایش یافته بود اما تفاوت معناداری بین تغییرات توان هوازی ژنوتیپ‌های GG، CG و CC ژن VEGF و دو ژنوتیپ CC و CT ژن  $HIF1-\alpha$  وجود نداشت.

در پژوهش‌های مختلف نشان داده شده که وراثت نقش مهمی در جذب حداکثر اکسیژن مصرفی و تمرین پذیری دارد (۴). همچنین در تحقیقات ژنتیکی انجام شده رابطه پروفایل های ژنی با توان هوازی آزمودنی‌ها مورد بررسی قرار گرفته و نشان داده شده که برخی از ژن‌ها و پروفایل های ژنی با ارتقای توان هوازی ارتباط دارند، در بین دوقلوهای تک سلولی شواهدی در رابطه با وابستگی شدید ژنوتیپ به توانایی پاسخ به ورزش و تمرین پذیری منظم وجود دارد (۲۷ و ۲۶ و ۲۳). همچنین در بین افراد مختلف تمرین استقامتی استاندارد با توجه به سن، جنس، توان هوازی به میزان ۴۷٪ با توارت ارتباط دارد (۲۸). سازگاری عضلانی در اثر تمرینات استقامتی و وراثت نتایج قابل توجهی برای تمرین پذیری در تغییرات توان هوازی را نشان می‌دهد و واریانس بیشتری را بین جفت دوقلوهای تک تخمکی (MZ؛ یکسان) نسبت به جفت دوقلوها برای پاسخ تمرینی  $VO_{2max}$  پس از مداخلات تمرین هوازی استاندارد را نشان می‌دهد (۲۹). تحریکات مکرر و متناوب عضلانی باعث نیاز به اکسیژن بیشتر می‌گردد و کاهش اکسیژن

موجب ایجاد تغییرات و سازگاری هائی در پاسخ تهویه ای و قلبی، تنفسی در بدن می شود برای ایجاد این سازگاری در ریه ها حضور یک عامل ژنتیکی تنظیم کننده به نام فاکتور القای هایپوکسی ( $HIF1-\alpha$ ) لازم و ضروری است (۲۸ و ۲۶). نود و هفت ژن به عنوان پیش بینی کننده های احتمالی تمرینات برای ارتقای توان هوازی دخالت دارند (۳۱). تنظیم منفی HIF در عضلات اسکلتی ورزشکاران نخبه استقامتی، مکانیزم فاکتور رونویسی عامل القای هایپوکسی ( $HIF1-\alpha$ ) یک واسطه کلیدی برای سازگاری سلولی با هایپوکسی است و در حالت نورموکسی به طور مداوم تخریب می شود اما در شرایط هایپوکسیک تثبیت و فعال می شود. ژن های هدف  $HIF1-\alpha$  اکسیژن رسانی را از طریق فعال نمودن مسیر اریتروپوئیزیس با واسطه اریتروپوئیتین (EPO) و رگزایی ناشی از فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) افزایش می یابد و عملکرد بافت را در زمانی که اکسیژن کمتری دسترس است، از طریق افزایش بیان گلکز تغییر می دهند. ناقل ها و آنزیم های گلیکولیتیک هایپوکسی موضعی ناشی از ورزش فعالیت  $HIF1-\alpha$  عضلات اسکلتی به عنوان کاندیدایی برای القای سازگاری تمرینی پیشنهاد کرده اند (۱۱). ۲۰ هفته تمرین هوازی منجر به افزایش توان هوازی آزمودنی های کم تحرک می شود (۲۷). یافته های مشابه دیگری نیز این نتایج را گزارش کردند (۲۸ و ۲۴ و ۲۳ و ۲۰). ۱۰ هفته تمرین تداومی و اینتروال توان هوازی را به میزان زیادی افزایش می دهد (۲۲). افزایش توان هوازی ( $VO_{2max}$ ) همراه با تمرین به دلیل افزایش برون ده قلبی و استخراج اکسیژن محیط می باشد (۲۲). استقامت نه تنها یک عامل کلیدی در بسیاری از ورزش ها است بلکه متغیرهای مربوط به استقامت نیز با سلامت بالا و مرگ و میر پایین مرتبط است. مطالعات دوقلو و خانواده نشان می دهد که چندین ویژگی مرتبط با استقامت با وراثت حدود ۵۰٪ مرتبط است. با این حال، ما هنوز درک ضعیفی از چگونگی توالی DNA و نقش وراثت در تمرین استقامتی داریم (۳۳ و ۳۲ و ۲۶). همچنین نتایجی در تضاد با یافته های فوق گزارش شده است (۲۶). در تمرینات استقامتی افزایشی در مقادیر بیان ژن های VEGF و eNOS مشاهده نشده است و نتایج حاکی از عدم تأثیر معنادار تمرین بر فرایند آنژیوژنز بوده. به نظر می رسد تمرین با ایجاد هایپوکسی باعث القای عوامل مؤثر در بیان ژن های VEGF می شود و به این وسیله آنژیوژنز را تحریک می کند. عامل القا شونده با هایپوکسی در شرایط هایپوکسی هیدروکسیله نشده و پایدار مانده و به هسته مهاجرت کرده و باعث القای عوامل مؤثر در رگزایی می شود (۲۷). با این حال، داده های ژنتیکی در زمینه تاثیر گذاری بر تغییرات توان هوازی زیاد نیستند. بخصوص برای استناد در این مطالعه آزمایشی ما نتوانستیم مطالعه ای را در مورد ارتباط ژنوتیپ های ژن های  $HIF1-\alpha$  و VEGF با تغییرات توان هوازی در زنان غیر فعال پیدا کنیم. آنچه در مطالعه آزمایشی حاضر مشاهده شد، عدم تفاوت تغییرات توان هوازی بین سه گروه افراد با ژنوتیپ های ژن VEGF شامل GG، CG و CC و دو گروه ژنوتیپ های CC، CT،  $HIF1-\alpha$  بود، یافته های این تحقیق نشان داد که در پیش آزمون میانگین توان هوازی ژنوتیپ های GG، CG و CC به ترتیب برابر با ۲۸/۷۶، ۳۰/۷۵ و ۲۸/۲۱ میلی لیتر در هر کیلوگرم در دقیقه بودند که بیشترین میزان مربوط به CG و کمترین میزان مربوط به CC بدست آمد و در پس آزمون نیز میانگین توان هوازی ژنوتیپ ها به ترتیب برابر با ۳۶/۸۲، ۳۵/۶۷ و ۳۴/۹۲ میلی لیتر در هر کیلوگرم در دقیقه بدست آمد اما تفاوت معناداری بین آنها وجود نداشت (ژنوتیپ های ژن VEGF شامل GG، CG و CC برابر  $P=0/663$  و  $P=0/873$  و  $P=0/173$  و ژنوتیپ های ژن  $HIF1-\alpha$  شامل CC، CT برابر با  $P=0/079$  و  $P=0/114$  و معنا دار نبود، در پایان قابل ذکر است که چنانچه در این پژوهش آزمایشی از تعداد بیشتر آزمودنی استفاده می شد بدون شک نتایج متفاوت تری بدست می آمد (همانگونه که در جداول تغییرات توان هوازی در ارتباط با پروفایل های ژنی آمده است در برخی از نمونه ها تعداد پروفایل های ژنی ۵ و ۶ نمونه بوده است). چنانچه در مطالعات آتی از حجم نمونه بیشتری استفاده شود، شاید بتوان نتایج متفاوتی از نظر معنادار بودن تغییرات توان هوازی در ارتباط با ژنوتیپ های مختلف را مشاهده کرد. از آنجا که تاکنون مطالعات زیادی در این زمینه انجام نشده است، بهتر است مطالعات آینده با تعداد آزمودنی و زمان تمرینات بیشتر انجام شود.

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه آزمایشی که به بررسی ارتباط پروفایل‌های مختلف ژنی ژن‌های  $HIF1-\alpha$  و  $VEGF$  با تغییرات توان هوازی به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی در زنان غیر فعال انجام شده است و با توجه به اهمیت مویرگ‌زایی در شرایط هایپوکسی و افزایش برداشت اکسیژن خون و در نتیجه افزایش توان هوازی ( $VO_{2max}$ ) بررسی نقش ژنوتیپ‌های مختلف  $VEGF$  و  $HIF1-\alpha$  در تغییرات توان هوازی به دنبال تمرینات استقامتی بسیار اهمیت دارد، لذا به علت کمبود پژوهش‌ها در این مورد بهتر است در مطالعات آینده با تعداد آزمودنی بیشتر انجام شود. همچنین یکی از محدودیت‌های پژوهش تعداد کم آزمودنی‌ها، عدم کنترل دقیق رژیم غذایی و زمان استراحت آزمودنی‌ها بود، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده به این موارد توجه شود، زیرا از ویژگی‌های مطالعه آزمایشی عدم کنترل برخی از عوامل تاثیر گزار در دست پژوهشگر می‌باشد.

## پیشنهادها

پیشنهاد می‌شود با توجه به نبودن این پژوهش تحقیقات بیشتر در این زمینه انجام شود همچنین در مطالعات بعدی تاثیر شدت‌های مختلف و پروتکل‌های مختلف تمرینی و گروه‌های سنی و جنسیتی متفاوت به طور جداگانه بررسی و با یکدیگر مقایسه شوند. همچنین با توجه به تولید ROS و NOS در تمرینات و نقش آن در افزایش توان هوازی در ارتباط با پروفایل‌های ژنی ژن‌های  $HIF1-\alpha$  و  $VEGF$  پیشنهاد می‌شود در تحقیقات بعدی این فاکتور‌ها در پاسخ به شدت‌های مختلف تمرین پرداخته شود.

## تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکتری تخصصی آقای پرویز شجاعی در رشته فیزیولوژی ورزشی قلب و عروق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد می‌باشد، که با هزینه شخصی دانشجو و حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه انجام شده است. و در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد با کد IR.IAU.B.REC.1399.008 مورد تایید قرار گرفته است. از تمام افرادی که در انجام پژوهش حاضر همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

## References

1. World Health Organ Tech Rep Ser (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. 894:i-xii, 1-253.
2. AM Ogunbode MMA Ladipo IO Ajayi, AA Fatiregun (2011). Obesity: An emerging disease. Review Article. P390-394. DOI: 10.4103/1119-3077.9174
3. Vineis, P, et al (2020). The biology of inequalities in health: the LIFEPATH project. *Frontiers in Public Health*. 8(4): p.417-449. doi: 10.3389/fpubh.2020.00118.
4. Perusse L, et al (2013). Advances in exercise, fitness, and performance genomics in 2012. *Med Sci Sports Exer*, May;45(5):824-31. Doi:10.1249/MSS.0b013e31828b28a3.
5. Lundby, C (2009). The response of human skeletal muscle tissue to hypoxia. *Mol Life Sci*. 88(00 p.3615-3623. DOI: 10.1007/s00018-009-0146-8. PMID: 19756383.
6. Prior. S.J, et al (2003). Sequence variation in hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF1A): association with maximal oxygen consumption. *Physiol Genomics* Sep 29;15(1):20-6. doi: 10.1152/physiolgenomics.00061.2003.

7. Chilov, D, et al (1999). Induction and nuclear translocation of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1): heterodimerization with ARNT is not necessary for nuclear accumulation of HIF-1alpha. *J Cell Sci.* Apr;112(pt 8):1203-12. Doi:10.1242/jcs.112.8.1203.
8. Leosco, D, et al (2008). Exercise promotes angiogenesis and improves beta-adrenergic receptor signalling in the post-ischaemic failing rat heart. *Cardiovasc Res.* 2008 May 1;78(2):385-94. doi: 10.1093/cvr/cvm109. Epub 2007 Dec 18.
9. Silva, J,F,R,d, et al (2012). Mobilization of endothelial progenitor cells with exercise in healthy individuals: a systematic review. *Arq Bras Cardiol.* Feb;98(2):182-91.
10. Dengler, V.L, et al (2014). Transcriptional Regulation by Hypoxia Inducible Factors. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* Author manuscript; available in PMC 2015 Feb 27.
11. Hassan, A, F(2013). Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. *Int J Health Sci (Qassim)* Jan;7(1):47-60. doi: 10.12816/0006020.
12. Farhadi, H, et al (2016). Effects of aerobic training and hypoxia on expression angiogenic factors in cardiac male wistar rats. *Journal of Sport and Biomotor Sciences*, 8(16):7079 .URL:<http://journals.hsu.ac.ir/sbs/article-1-708-fa.html>. (in Persian).
13. Boutcher, S.H , Park Y, Louise Dunn S, Boutcher Y.(2013). The relationship between cardiac autonomic function and maximal oxygen uptake response to high-intensity intermittent-exercise training. *PMID.* 31(9): p. 1024-1029. DOI: 10.1080/02640414.2012.762984.
14. Hudlicka, O and Brown, M(2009). Adaptation of skeletal muscle microvasculature to increased or decreased blood flow: role of shear stress, nitric oxide and vascular endothelial growth factor. *J Vasc Res* ;46(5):504-12. doi: 10.1159/000226127. Epub Jun 26.
15. B H Jiang 1 G L Semenza, C Bauer, H H Marti (1996). Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O2 tension *PMID:* 8897823. 271(4 Pt1):C1172-80. doi: 10.1152/ajpcell.1996.271.4.C1172.
16. Gavin TP, Wagner PD.. Effect of short-term exercise training on angiogenic growth factor gene responses in rats. 2001.*J Appl Physiol.* 90: 1219- 1226. Copyright © 2001 the American Physiological Society .Pub Med11247917
17. Iemitsu, M, et al (2006). Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* Sep;291(3):H1290-8. doi: 10.1152/ajpheart.00820.2005. Epub 2006 Apr 14.
18. Duggan, C et al (2014). Effect of a 12-month exercise intervention on serum biomarkers of angiogenesis in postmenopausal women: a randomized controlled trial.*Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* Apr;23(4):648-57. doi:10.1158/1055-9965.EPI-13-1155. Epub feb 5.
19. Hamel, P (1986). Heredity and muscle adaptation to endurance training. *Med Sci Sports Exerc.* PMID: 3784881. Dec;18(6):690-6.
20. Sarzynski Marka .A, et al (2010). Association of SNPs from 17 Candidate Genes with Baseline Symptom-Limited Exercise Test Duration and Decrease in Duration over 20 Years: The CARDIA Fitness Study. *Circ Cardiovasc Genet.* Dec; 3(6): 531–538. Published online Oct 15. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.110.957183.
21. Williams, C.J (2017). Genes to predict VO 2max trainability. *Proceedings of the 34th FIMS World Sports Medicine Congress.:* a systematic review. 18(8): p. 81-110. DOI:10,1186/s12864-017-4192-6 PMID:29143670.
22. Waltenberger, J (2009) .VEGF resistance as a molecular basis to explain the angiogenesis paradox in diabetes mellitus. *Biochem Soc Trans* 37 (6): 1167–1170. <https://doi.org/10.1042/BST0371167>.
23. Zadro, J R, et al (2017). The Beneficial Effects of Physical Activity: Is It Down to Your Genes? A Systematic Review and Meta-Analysis of Twin and Family Studies.*Sports Med Open.* Dec;3(1):4. doi:10.1186/s40798-016-0073-9. Epub Jan10.

24. Consultation. W.J.W.H.O.t.r.s (2000) Obesity preventing and managing the global epidemic.894: p.1-253 . Report of a WHO <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11234459> Corpus ID:56338884.
25. Bassett Jr, D.R, Howley E T (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sport Exercise*.32(1):70-82. Doi: 10.1097/00005768-200001000-00012.
26. Bouchard, C.(2014) Genomic predictors of trainability..*Experimental Physiology*97(3): p. 347-352. DOI 10.1113/expphysiol.2011.058735.
27. Mounier, R, et al (2009). Effect of intermittent hypoxic training on HIF gene expression in human skeletal muscle and leukocytes. *Eur J Appl Physiol*. 2009 Mar;105(4):515-24. doi: 10.1007/s00421-008-0928-y. Epub 2008 Nov 19.
28. Slivka, D,R, et al (2014). Human skeletal muscle mRNA Response to a single hypoxic exercise bout. *Wilderness Environ Med*. Dec;25(4):462-5. doi: 10.1016/j.wem.2014.06.011. Epub 2014 Sep 16.
29. Yaghoob Nezhad, F et al (2019). Genes Whose Gain or Loss-of-Function Increases Endurance Performance in Mice: A Systematic Literature Review. *Front Physiol*. Mar 22; 10:262.doi:10.3389/fphys.2019.00262.
30. Breier G. (2001). Angiogenesis in embryonic development--a review. *Placenta*. Mar-Apr: 21 Suppl A: S11-5. Doi:10.1053/plac.1999.0525.
31. Bouchard, C, et al (2012). Adverse metabolic response to regular exercise: is it a rare or common occurrence? *PLoS One*. 7(5):e37887.doi:10.1371/journal.pone.0037887.Epub2012May 30.
32. Brixius , K, et al (2008). Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50-60 years.*Br J Sports Med*. Feb;42(2):126-9;discussion 129.doi:10.1136/bjism.2007.035188.
33. James A Timmons. Human muscle gene expression responses to endurance training provide a novel perspective on Duchenne muscular dystrophy. PMID: 15857889.2005 May; 19(7) :750-60. doi: 10.1096/fj.04-1980com.