University of Tehran
Faculty of
Sport Sciences and Health

Journal of Sport Biosciences

Online ISSN: 2676-4148

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

Parviz Shojaei[1], Mehran Ghahramani[2]✉, Sirous Farsi[3]

1. Department of Exercise Physiology, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran. E-mail: p.shojaei@iaub.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Exercise Physiology, Gilan-E-Gharb Branch, Islamic Azad University, Gilan-E-Gharb, Iran. E-mail: m.ghahramani@iauksh.ac.ir
3. Department of Exercise Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran. E-mail: 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-α,
VEGF.

ABSTRACT

Introduction: This research aimed to investigate the relationship between HIF1-α 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-α 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-α genes following eight weeks of moderate-intensity endurance training, the aerobic capacity of CC and CT genotypes of the HIF1-α 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-α 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-a 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. Association of Different HIF1-α and VEGF Gene Genotypes with Changes in Aerobic Capacity Following Moderate-Intensity Endurance Training in Inactive Women -A Pilot Study. *Journal of Sport Biosciences*.2002; 14 (2): 61-73. DOI: http//doi.org/10.22059/jsb.2022.336857.1504

© The Author(s). Publisher: University of Tehran, Faculty of Sport Sciences and Health.

University of Tehran
Faculty of
Sport Sciences and Health

Journal of Sport Biosciences

Online ISSN: 2676-4148

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 (VO2max). 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-α genes, which includes CC and CT genotypes of the HIF1-α 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-α 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 ± 2.8 cm, mean weight: 74 ± 1.8 kg, mean age: 38 ± 5.4 years, mean BMI: 32 ± 2.4 kg/m2) 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-α 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-α genes after eight weeks of moderate-intensity endurance training concerning the CC and CT genotypes of the HIF1-α 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-α 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-α 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 (VO2max) investigating the role of different genotypes of VEGF and HIF1-α 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-α 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.

علوم زیستی ورزشی
شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۴۱۴۸
دانشگاه تهران
دانشکده علوم ورزشی و تندرستی

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

پرویز شجاعی[۱]، مهران قهرمانی[۲]✉، سیروس فارسی[۳]

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

۲. نویسنده مسؤول، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد گیلان غرب، دانشگاه آزاد اسلامی،گیلان غرب، ایران. رایانامه: m.ghahramani@iauksh.ac.ir

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

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۱۰/۱۴
تاریخ بازنگری:۱۴۰۱/۰۳/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۲
تاریخ انتشار:۱۴۰۱/۰۶/۳۱

کلیدواژه‌ها:
توان هوازی،
آنژیوژنز،
ژنوتیپ،
HIF1-α،
VEGF.

چکیده

مقدمه: هدف از پژوهش بررسی رابطه ژنوتیپ های مر تبط با ژن های HIF1-α و VEGF با تغییرات توان هوازی به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط در زنان غیر فعال بود.

روش پژوهش: 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 شدت۵۵٪ 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 ژنوتیپ‌های مختلف ژنهای ژن HIF1- α شامل CC و ژنوتیپ‌های 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.

یافته‌ها: نتایج تغییرات توان هوازی آزمودنی ها و بررسی رابطه ژنوتیپ های مختلف ژنهای VEGFو HIF1-a به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط در ارتباط با ژنو تیپ های CC وCT ژن HIF1- α در ژنوتیپCT برابر با(P=۰/۵۲۹) و ژنوتیپ هایGG وCC وCG ژن VEGF ژنوتیپ CG برابر با (P=۰/۸۷۳) بوده که ژنوتیپ CT ژن HIF1-α بیشترین افزایش را داشته اما این افزایش معنا دار نبوده است.

نتیجه‌گیری: هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط موجب افزایش توان هوازی در رابطه با پروفایل های ژنی ژن های HIF1-α و VEGF در زنان غیر فعال چاق شده اما تغییرات توان هوازی در ارتباط با پروفایل‌های ژنی ژن‌های مزبور معنادار نمی باشد.

استناد: شجاعی، پرویز؛ قهرمانی، مهران؛ و فارسی، سیروس. بررسی رابطه ژنوتیپ های مر تبط با ژن های HIF1-α و VEGF با تغییرات توان هوازی به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط در زنان غیر فعال– مطالعه آزمایشی. *علوم زیستی ورزشی*.۱۴۰۱؛ ۲ (۱۴): ۶۱-۷۳.

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 خطرزا در جهان است که به عنوان یک عامل مستقل موجب افزایش مرگ و میر در جهان می‌شود (۲). آثار متابولیک چاقی، این عارضهٔ بسیار شایع را به عنوان یکی از مهم ترین عوامل خطرزا برای بیماری‌هایی مانند دیابت، فشارخون، بیماری‌های شریان کرونر قلبی و آرترو اسکلروز مطرح ساخته است (۳).

از سوی دیگر فعالیت ورزشی سبب افزایش متابولیسم و کاهش چاقی می‌شود (۳،۴). هنگام انجام ورزش های استقامتی به علت در گیر بودن عضلات فعال نیاز بیشتری به اکسیژن وجود دارد بنا بر این همئوستاز سلول دچار اختلال می شود و در این حالت هایپوکسی اتفاق می افتد و در این موقعیت عامل القای هیپوکسی (HIF1- α) که یک فاکتور رونویسی DNA است و از دو زیر واحد تشکیل شده است تثبیت و هیپوکسی تنظیم می شود در این حالت HIF1-α به هسته رفته و با HIF1-β هترو دایمر می شود و موجب فعال شدن VEGF می شود (۵). در فرایندهای رگ زایی ، گلبول های قرمز در متابولیسم دخیل هستند و باعث می شود HIF1-α یک ژن موثر در ایجاد VO2max قبل و بعد از تمرینات هوازی می باشد (۶). در شرایطی که اکسیژن کافی در دسترس سلول نباشد هایپوکسی موجب بیان عامل القای هایپوکسی(HIF1-α) شده و به دنبال آن بیان عامل رشد اندوتلیال عروقی(VEGF) می شود، 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 GG, CG, CC می باشد به منزلهٔ قویترین و مهمترین عامل مؤثر در آنژیوژنز بوده و باعث افزایش مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال و تشکیل شبکهٔ عروقی می‌شود و برای تمایز سلول‌های اندوتلیال و جوانه زدن مویرگ‌های جدید از عروق قبلی (آنژیوژنز) ضروری است (۸). فاکتور القایی هیپوکسی (HIF1-α) که دارای دو ژنوتیپ CT, CC می باشد می‌تواند رونویسی چندین ژن از جمله عامل رشدآندوتلیوم عروقی (VEGF) و اریتروپوئیتین را فعال نماید. بنابراین VEGF یک ژن هدف برای HIF1-α است که نشان داده شده در پاسخ به فقدان اکسیژن در آزمایشگاه و در داخل بدن به صورت مثبت تنظیم می‌شود (۷،۹) در صورت کاهش مقدار اکسیژن بین سلولی، فعالیت‌های آنزیمی پرولیل هیدروکسیلازها مهار می‌شود و این شرایط به رونویسی هسته ای و شکل گیری هترو دایمر فعال HIF1-β 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-α و VEGF سیگنال دهنده‌های ضروری برای حفظ و نگهداری چگالی عروقی و تأمین اکسیژن در هایپوکسی بافتی می باشند (۷،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 (VO2max)، 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 می شود (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 (۶،۱۳). همچنین هنگام تمرینات ورزشی، هایپوکسی اتفاق می افتد و هایپوکسی ممکن است موجب افزایش سطوح میوگلوبین شود (۱۴). همچنین، رابطهٔ مثبت و معناداری بین تمرین و نیروی کشش دیده شده است (۱۵). تمرین باعث افزایش نیتریک اکساید در عضلهٔ قلبی بیماران قلبی می‌شود که اتساع کنندهٔ عروقی قوی است (۱۶). همچنین، تمرین می‌تواند یک محرک فیزیولوژیک برای رهایی سلول‌های پیش ساز اندوتلیال از مغز استخوان محسوب شود (۸،۱۷).

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 هیپوکسی در عضلات اسکلتی موجب افزایش بیان ژن VEGF می‌شود و نقش مهم این شاخص در فراخوانی و لانه گزینی سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در عروق خونی ثابت شده است (۶،۹،۱۹) بر این در حیوانات آزمایشگاهی تغییرات

VEGF-mRNA را در شرایط ورزش هوازی و بی هوازی سنجیده اند 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-α دارای دو ژنوتیپ CC ,CT می باشد ممکن است منجر به پاسخ‌های متفاوتی به تغییرات توان هوازی به دنبال تمرینات ورزشی استقامتی بشود. فعالیت بدنی فنوتیپ پیچیده‌ای است که متاثر 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 ارگانیسم دیپلوئیدی یکی باشد برای آن آلل خاص هموزیگوت گفته می‌شود و اگر دو آلل متفاوت باشند هتروزیگوت گفته می‌شود. غالبا 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 تاثیر ژنتیک بر عملکرد جسمانی بر گرفته از نتیجه مطالعات بر روی دوقلوهای همسان به منظور تخمین وراثت پذیری و عوامل مرتبط با آمادگی جسمانی و توان هوازی و عملکرد قلبی عروقی بوده است (۱،۲۲) و شناسایی ژن‌های مرتبط با عملکرد جسمانی با توجه به نقش و تاثیر این ژن‌ها در برخی از شاخص‌های سلامتی (مانند قلبی عروقی)، ارزش بررسی آنها را بیشتر نمایان کرده است (۲۴). با این حال تاکنون مطالعه‌ای به بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های مختلف ژن های VEGF و HIF1-α 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 ژن های VEGF و HIF1-α به دنبال هشت هفته تمرینات استقامتی با شدت متوسط در زنان غیر فعال چاق بود.

پیشینه پژوهش

تمرینات ورزشی استقامتی می تواند توان هوازی را با دامنه تأثیر بسیار گسترده ای در انسان افزایش دهد (۲۵).

تحقیقات خارجی

لوند بای و همکاران در پژوهش خود نتیجه گیری کرده اند که در انسان ژن ها و آنزیم های مختلف موجب مهار فسفوریلیشن می شود که یک عامل تعیین کننده کلیدی برای ظرفیت استقامت بالا و توان هوازی (VO2max) است و به حداکثر ظرفیت انتقال اکسیژن مرتبط است و این به نوبه خود بستگی به حداکثر برون ده قلبی دارد که در قلب ورزشکار افزایش می یابد و ظرفیت انتقال اکسیژن خون را تنظیم می کند (۵).

تحقیقات داخلی

فرهادی و همکاران در پژوهشی به بررسی تاثیر هشت هفته(پنج روز در هفته) تمرین هوازی با سرعت ۲۲تا ۲۶متر در دقیقه دویدن روی تردمیل با شیب ۶ درجه درموش های صحرایی نر(در ۴ گروه ۱۰ تایی: کنترل سالم، هایپوکسی، تمرین هوازی، تمرین هوازی توام با هایپوکسی) پرداختند. در این پژوهش PI3K/Akt و VEGFو HIF1-α 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 ۲٫۸± ۱۵۷ سانتی متر ، وزن ۱٫۸ ± ۷۴ کیلو گرم ، سن ۵٫۴ ± ۳۸ سال ، شاخص توده بدنی ۲٫۴ ± ۳۲ 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 پـولار مـدل (پـوکس 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 VO2max استفاده شد که VO2max از Met به دست آمده از انجام آزمون بروس بر روی تردمیل تقسیم بر ۳/۵ 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 وتشخیص ارسال شد و نمونه‌ها در دمای ۲۰- 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 MgCl2، 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 ژنو تیپ های ژن HIF1-α وVEGF در جداول زیر مشخص شدند.

مراحل ست آپ کردن پرایمر.

الف: در یک میکرو تیوب استریل ۰/۲ میلی لیتر مواد زیر افزوده می شود.

جدول ۱. مقدار مواد مورد نیاز در مرحله اول ست آپ کردن پرایمر

Master mix 2X[amplicon]	۷/۵ میکرو لیتر
پرایمر بالا دست(5pM)	۰/۸ میکرو لیتر
پرایمر پائین دست(5pM)	۰/۸ میکرو لیتر
DNA	۱ میکرو لیتر
آب دیو نیزه	۵ میکرو لیتر

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

جدول ۲. شرایط جرای PCR

مراحل	دما(درجه سانتی -گراد)	زمان	تعداد سیکل
دناتوراسیون اولیه	۹۴ درجه سانتیگراد	۷ دقیقه	۱
دناتوراسیون	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	GGTCTGCATTCACATCTGCTATGC 3, generating an 80 bp DNA fragment
HIF1-α	F: 5	ATGACCACTGCTAAGGCATCAGC 3
	R: 5	AGGTTAAGGCTCCTTGGATGAGC 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 می‌شود تا واکنش PCR، تکثیر آلل خاصی را نشان دهد. جهت طراحی پرایمرها، توالی‌های ژنومیک ژن VEGF و ژن HIF1-α به همراه توالی اطراف ناحیه پلی‌مورفیک 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 اینترنتیhttp:11 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 میکرولیتر 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، نمونه ها الکتروفورز شدند. لازم به ذکر است که پس از استخراج DNA از بزاق به منظور تائید کیفیت DNA استخراج شده و همچنین پس از انجام تکنیکTetra-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 ژنوتیپCC وCT از ژنHIF1-α را داشتیم، از روش آماری تحلیل تی استیودنت و واریانس یک راهه مستقل در سطح P≤۰/۰۰۵ 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 CCو CGوGG 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=۰/۶۶۳ و P=۰/۸۷۳ و P=۰/۱۷۳). 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 استیودنت برای بررسی تغییرات توان هوازی ژنوتیپ هایCT و CC ژن HIF1-α استفاده شد ، نتایج نشان داد که تفاوت ها بین توان هوازی ژنوتیپ‌های CTو CC ژن HIF1-α هم قبل از تمرین، هم بعد از تمرین و هم میزان تغییرات در جدول های ۳ و ۴ نشان داده شده و نتایج(به ترتیب P=۰/۰۷۹ و P=۰/۱۱۴) بوده ، هر چند تا حدی مقدار میانگین تغییرات توان هوازی ژنوتیپ CT ژن HIF1-α بعد از ۸ هفته تمرین هوازی نسبت به ژنوتیپ های دیگر ژن های VEGF و HIF1-α بیشتر بوده اما این تفاوت معنادار نبوده است (P=۰/۰۷۹).

جدول ۴. مقایسه میانگین های توان هوازی(میلی لیتر بر کیلو گرم در دقیقه)پیش آزمون پروفایل های ژنی VEGF

ژنوتیپ	تعداد	انحراف معیار±میانگین	میزان آماره F	سطح معناداری
GG	۹	۲۸/۶۷±۵/۰۳	۰/۰۴۲	۰/۶۶۳
CG	۹	۳۰/۷۵±۷/۲۷		
CC	۵	۲۸/۲۱±۲/۱۸		

جدول ۵. مقایسه میانگین های توان هوازی(میلی لیتر بر کیلو گرم در دقیقه پس آزمون پروفایل های ژنی VEGF

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

جدول۶. مقایسه میانگین های توان هوازی(میلی لیتر بر کیلو گرم در دقیقه) پیش آزمون پروفایل های ژنی HIF1-α

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

جدول۷. مقایسه میانگین های توان هوازی(میلی لیتر بر کیلو گرم در دقیقه) پس آزمون پروفایل های ژنی HIF1-α

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

جدول ۸ .نتایج تفاوت تغییرات میانگین توان هوازی پروفایل های ژنی VEGF وα -HIF1

ژنوتیپ	Genotypes	تعداد	انحراف معیار±میانگین	میزان آماره F	سطح معناداری
VEGF	GG	۹	۸/۶±۰۶۴/۴	۱/۶۳	۰/۱۸۳
	CG	۹	۴/۳±۹۲/۴۷		
	CC	۵	۶/۷±۷۱/۳		
HIF1a	CC	۱۷	۵/۳±۸۴/۴۷		
	CT	۶	۸/۳±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 وCC ژن VEGF و دو ژنوتیپ CCو CT ژن HIF1-αوجود نداشت .

در پژوهش های مختلف نشان داده شده که وراثت نقش مهمی در جذب حداکثر اکسیژن مصرفی و تمرین پذیری دارد (۵). همچنین در تحقیقات ژنتیکی انجام شده رابطه پروفایل های ژنی با توان هوازی آزمودنی ها مورد بررسی قرار گرفته و نشان داده شده که برخی از ژن ها 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 (۲۳،۲۵،۲۶) همچنین در بین افراد مختلف تمرین استقامتی استاندارد با توجه به سن ، جنس ، توان هوازی به میزان ۴۷٪ با توارت ارتباط دارد (۲۷). سازگاری عضلانی در اثر تمرینات استقامتی و وراثت نتایج قابل توجهی برای تمرین پذیری در تغییرات توان هوازی را نشان می دهد و واریانس بیشتری را بین جفت دوقلوهای تک تخمکی (MZ؛ یکسان) نسبت به جفت دوقلوها برای پاسخ تمرینی VO2max پس از مداخلات تمرین هوازی استاندارد را نشان می دهد (۲۸). تحریکات مکرر و متناوب عضلانی باعث نیاز به اکسیژن بیشتر می گردد و کاهش اکسیژن موجب ایجاد تغییرات و سازگاری هائی در پاسخ تهویه ای و قلبی ، تنفسی در بدن می شود برای ایجاد این سازکاری در ریه ها حضور یک عامل ژنتیکی تنظیم کننده به نام فاکتور القای هایپوکسی

(HIF1-α)لازم و ضروری است (۲۵)(۲۷)(۲۹). نود و هفت ژن به عنوان پیش بینی کننده های احتمالی تمرینات برای ارتقای توان هوازی دخالت دارند (۳۰). تنظیم منفی HIF در عضلات اسکلتی ورزشکاران نخبه استقامتی ، مکانیزم فاکتور رونویسی عامل القای هیپوکسی (HIF1-α) یک واسطه کلیدی برای سازگاری سلولی با هیپوکسی است و در حالت نورموکسی به طور مداوم تخریب می شود اما در شرایط هیپوکسیک تثبیت و فعال می شود. ژن های هدفHIF1-α اکسیژن رسانی را از طریق فعال نمودن مسیر اریتروپوئزیس با واسطه اریتروپویتین (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 گلوکز تغییر می دهند. ناقل ها و آنزیم های گلیکولیتیک هیپوکسی موضعی ناشی از ورزش فعالیت HIF1-α عضلات اسکلتی به عنوان کاندیدایی برای القای سازگاری تمرینی پیشنهاد کرده اند (۱۱). ۲۰ هفته تمرین هوازی منجر به افزایش توان هوازی آزمودنی‌های کم تحرک می‌شود (۲۶). یافته‌های مشابه دیگری نیز این نتایج را گزارش کردند (۱،۲۰،۲۳،۲۷،۳۱). هفته تمرین تداومی و اینتروال توان هوازی را به میزان زیادی افزایش می دهد (۲۲). افزایش توان هوازی (VO2max) همراه با تمرین به دلیل افزایش برون ده قلبی و استخراج اکسیژن محیط می‌باشد (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 (۲۵)(۳۱)(۳۲). همچنین نتایجی در تضاد با یافته‌های فوق گزارش شده است (۲۵). 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 می‌رسد تمرین با ایجاد هیپوکسی باعث القای عوامل مؤثر در بیان ژن‌های VEGF می‌شود و به این وسیله آنژیوژنز را تحریک می‌کند. 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 می‌شود (۲۶). با این حال، داده‌های ژنتیکی در زمینه تاثیر گذاری بر تغییرات توان هوازی زیاد نیستند. بخصوص برای استناد در این مطالعه آزمایشی ما نتوانستیم مطالعه‌ای را در مورد ارتباط ژنوتیپ‌های ژن های HIF1-αو 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 ژنوتیپ‌های ژن VEGF شامل GG ، CG و CC و دو گروه ژنوتیپ های CC, CT ژن HIF1-α بود ، یافته‌های این تحقیق نشان داد که در پیش آزمون میانگین توان هوازی ژنوتیپ‌های GG، CG و CC ژن VEGF 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 این ژنوتیپ‌ها 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 VEGFشامل GG، CG و CC برابر۰/۶۶۳=P و ۰/۸۷۳=P و ۰/۱۷۳=P و ژنوتیپ های ژن HIF1-α شامل CC, CT برابر با ۰/۰۷۹=P و ۰/۱۱۴=P 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 ژنوتیپ‌های 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 پروفایل های مختلف ژنی ژن هایHIF1-α 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 (VO2max) بررسی نقش ژنوتیپ‌های مختلف VEGFو HIF1-α در تغییرات توان هوازی به دنبال تمرینات استقامتی بسیار اهمیت دارد ، لذا به علت کمبود پژوهش ها در این مورد بهتر است در مطالعات آینده با تعداد آزمودنی بیشتر انجام شود. همچنین یکی از محدودیت‌های پژوهش تعداد کم آزمودنی ها ، عدم کنترل دقیق رژیم غذایی و زمان استراحت آزمودنی‌ها بود ، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده به این موارد توجه شود ،زیرا از ویژگی های مطالعه آزمایشی عدم کنترل برخی از عوامل تاثیر گزار در دست پژوهشگر می باشد.

پیشنهادها

پیشنهاد می شود با توجه به نو بودن این پژوهش تحقیقات بیشتر در این زمینه انجام شود همچنین در مطالعات بعدی تاثیر شدت های مختلف و پروتکل های مختلف تمرینی و گروه های سنی و جنسیتی متفاوت به طور جدا گانه بررسی و با یکدیگر مقایسه شوند .همچنین با توجه به تولید ROS وNOS در تمرینات و نقش آن در افزایش توان هوازی در ارتباط با پروفایل های ژنی ژن های HIF1-α و VEGF پیشنهاد می شود در تحقیقات بعدی این فاکتور ها در پاسخ به شدت های 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 می باشد، 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 می کنیم.

References

1. World Health Organ Tech Rep Ser. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. 2000.
2. Ogunbode A, Ajayi I, Ladipo M, Fatiregun A. Obesity: An emerging disease. Niger J Clin Pract [Internet]. 2011;14(4):390.
3. Vineis P, Avendano-Pabon M, Barros H, Bartley M, Carmeli C, Carra L, et al. Special Report: The Biology of Inequalities in Health: The Lifepath Consortium. Front Public Heal [Internet]. 2020 May 12;8.
4. Pérusse L, Rankinen T, Hagberg\ JM, Loos RJF, Roth SM, Sarzynski MA, et al. Advances in Exercise, Fitness, and Performance Genomics in 2012. Med Sci Sport Exerc [Internet]. 2013 May;45(5):824–31.
5. Lundby C, Calbet JAL, Robach P. The response of human skeletal muscle tissue to hypoxia. Cell Mol Life Sci [Internet]. 2009 Nov 10;66(22):3615–23.
6. Prior SJ, Hagberg JM, Phares DA, Brown MD, Fairfull L, Ferrell RE, et al. Sequence variation in hypoxia-inducible factor 1α (HIF1A): association with maximal oxygen consumption. Physiol Genomics [Internet]. 2003 Sep 29;15(1):20–6.
7. Chilov D, Camenisch G, Kvietikova I, Ziegler U, Gassmann M, Wenger RH. 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 [Internet]. 1999 Apr 15;112(8):1203–12.

8. Leosco D, Rengo G, Iaccarino G, Golino L, Marchese M, Fortunato F, et al. Exercise promotes angiogenesis and improves β-adrenergic receptor signalling in the post-ischaemic failing rat heart. Cardiovasc Res [Internet]. 2008 May 1;78(2):385–94.
9. Silva JFR da, Rocha NG, Nóbrega ACL da. Mobilization of endothelial progenitor cells with exercise in healthy individuals: a systematic review. 2012;98(2):182–91.
10. Dengler VL, Galbraith MD, Espinosa JM. Transcriptional regulation by hypoxia inducible factors. Crit Rev Biochem Mol Biol [Internet]. 2014 Jan 7;49(1):1–15.
11. Hassan AF, Kamal MM. 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) [Internet]. 2013 Jan;7(1):47–60.
12. Farhadi H, Siahkohian M, Bolboli L, Karimi P. Effects of aerobic training and hypoxia on expression angiogenic factors in cardiac male Wistar rats. J Sport Biomotor Sci. 2015;8(16):70–9. (In Persian).
13. Boutcher SH, Park Y, Dunn SL, Boutcher YN. The relationship between cardiac autonomic function and maximal oxygen uptake response to high-intensity intermittent-exercise training. J Sports Sci [Internet]. 2013 May;31(9):1024–9.
14. Hudlicka O, Brown MD. 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 [Internet]. 2009;46(5):504–12.
15. Jiang BH, Semenza GL, Bauer C, Marti HH. Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O2 tension. Am J Physiol Physiol [Internet]. 1996 Oct 1;271(4):C1172–80.
16. Gavin TP, Wagner PD. Effect of short-term exercise training on angiogenic growth factor gene responses in rats. J Appl Physiol [Internet]. 2001 Apr 1;90(4):1219–26.
17. Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyauchi T. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. Am J Physiol Circ Physiol [Internet]. 2006 Sep;291(3):H1290–8.
18. Duggan C, Xiao L, Wang C-Y, McTiernan A. Effect of a 12-Month Exercise Intervention on Serum Biomarkers of Angiogenesis in Postmenopausal Women: A Randomized Controlled Trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev [Internet]. 2014 Apr 1;23(4):648–57.
19. Hamel P, Simoneau JA, Lortie G, Boulay MR, Bouchard C. Heredity and muscle adaptation to endurance training. Med Sci Sports Exerc. 1986;18(6):690–6.
20. Sarzynski MA, Rankinen T, Sternfeld B, Grove ML, Fornage M, Jacobs DR, et al. Association of Single-Nucleotide Polymorphisms From 17 Candidate Genes With Baseline Symptom-Limited Exercise Test Duration and Decrease in Duration Over 20 Years. Circ Cardiovasc Genet [Internet]. 2010 Dec;3(6):531–8.
21. Williams CJ, Williams MG, Eynon N, Ashton KJ, Little JP, Wisloff U, et al. Genes to predict VO2max trainability: a systematic review. BMC Genomics [Internet]. 2017 Nov 14;18(S8):831.
22. Waltenberger J. VEGF resistance as a molecular basis to explain the angiogenesis paradox in diabetes mellitus. Biochem Soc Trans [Internet]. 2009 Dec 1;37(6):1167–70.
23. Zadro JR, Shirley D, Andrade TB, Scurrah KJ, Bauman A, Ferreira PH. The Beneficial Effects of Physical Activity: Is It Down to Your Genes? A Systematic Review and Meta-Analysis of Twin and Family Studies. Sport Med - Open [Internet]. 2017 Dec 10;3(1):4.
24. Bassett DR. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. Med Sci Sport Exerc [Internet]. 2000 Jan;70.
25.Bouchard C. Genomic predictors of trainability. Exp Physiol [Internet]. 2012 Mar;97(3):347–52.
26. Mounier R, Pialoux V, Roels B, Thomas C, Millet G, Mercier J, et al. Effect of intermittent

hypoxic training on HIF gene expression in human skeletal muscle and leukocytes. Eur J Appl Physiol [Internet]. 2009 Mar 19;105(4):515–24.
27. Slivka DR, Heesch MWS, Dumke CL, Cuddy JS, Hailes WS, Ruby BC. Human Skeletal Muscle mRNA Response to a Single Hypoxic Exercise Bout. Wilderness Environ Med [Internet]. 2014 Dec;25(4):462–5.
28. Yaghoob Nezhad F, Verbrugge SAJ, Schönfelder M, Becker L, Hrabě de Angelis M, Wackerhage H. Genes Whose Gain or Loss-of-Function Increases Endurance Performance in Mice: A Systematic Literature Review. Front Physiol [Internet]. 2019 Mar 22;10.
29. Breier G. Angiogenesis in Embryonic Development—A Review. Placenta [Internet]. 2000 Mar;21:S11–5.
30. Bouchard C, Blair SN, Church TS, Earnest CP, Hagberg JM, Häkkinen K, et al. Adverse Metabolic Response to Regular Exercise: Is It a Rare or Common Occurrence? Li S, editor. PLoS One [Internet]. 2012 May 30;7(5):e37887.
31. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M, et al. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50-60 years. Br J Sports Med [Internet]. 2007 Jun 4;42(2):126–9.
32. Timmons JA, Larsson O, Jansson E, Fischer H, Gustafsson T, Greenhaff PL, et al. Human muscle gene expression responses to endurance training provide a novel perspective on Duchenne muscular dystrophy. FASEB J [Internet]. 2005 May;19(7):750–60.