مقاله پژوهشی

تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر ژنوتیپ‌های AT و TT پلی‌مورفیسم *rs1870377* ژن VEGFR و تغییرات عملکرد هوازی زنان تمرین نکرده

حدیث رحیمی[۱]، مانیا روزبیانی[۱*]، عباس صارمی[۲]

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

۲- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

[*]مسئول مکاتبات: ma.roozbayani@iau.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2022.1960904.1396

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۸

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر ژنوتیپ‌های AT و TT پلی‌مورفیسم *rs1870377* ژن VEGFR و تغییرات عملکرد هوازی زنان تمرین نکرده انجام شد. بدین منظور، تعداد ۲۹ زن غیرفعال ۳۰ تا ۴۵ ساله به صورت تصادفی از زنان داوطلب شهرستان شهریار در استان تهران انتخاب شدند. آزمودنی‌ها ۸ هفته تمرین هوازی بصورت ۵ جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه با شدت ۵۵ تا ۷۵ درصد ضربان قلب ذخیره انجام دادند. در دو هفته اول با ۵۵ تا ٦۵ درصد ضربان قلب بیشینه، در دو هفته دوم با ٦۰ تا ٦۵ درصد ضربان قلب بیشینه و در ٤ هفته پایانی با ٦۵ تا ۷۵ درصد ضربان قلب بیشینه به تمرین پرداختند. ۱۰ دقیقه برای گرم کردن و ۱۰ دقیقه برای سرد کردن در هر جلسه تمرینی در نظر گرفته شد. برای تعیین میزان VO2max از آزمون هفت مرحله‌ای بروس، پیش و پس از تمرینات استفاده شد. آزمون با شیبی معادل ۱۰ درصد و سرعت ۲/۷ کیلومتر بر دقیقه روی نوار گردان شروع شده و هر مرحله در مدت سه دقیقه انجام شد به طوری‌که در مرحله هفتم شیب ۲۲ درصد و سرعت ۹/٦ بود. سپس از بین آزمودنی‌هایی که توانستند آزمون مورد نظر را بر اساس انتظار محقق اجرا کنند، نمونه‌گیری بزاقی برای توالی‌یابی DNA برای تعیین ژنوتیپ‌ها انجام شد. جهت تعیین ژنوتیپ ژن از روش RFLP استفاده شد. هضم آنزیمی در دمای ٦۵ درجه سانتیگراد و به‌صورت Overnight شامل یک میکرولیتر آنزیم، ۳ میکرولیتر محصول PCR، ۲ میکرولیتر بافر مخصوص و ۱۵ میکرولیتر آب دیونیزه استفاده شد. نتایج حاصل از بررسی داده‌ها با استفاده از آزمون t وابسته آنالیز شد. نتایج نشان داد که میزان VO2max در زنانی که دارای ژنوتیپ AT بودند به‌طور میانگین قبل و بعد از مداخله ورزشی، معنی‌دار نبوده است (p = ۰/۸٤۰). میزان VO2max در زنانی که دارای ژنوتیپ AT بودند به طور میانگین قبل و پس از مداخله ورزشی، معنی‌دار نبوده است (p = ۰/٦۳۳). همچنین، میزان VO2max در زنانی که دارای ژنوتیپ AT بودند، پس از مداخله ورزشی، نسبت به ژنوتیپ TT معنی‌دار نبود. در این تحقیق نشان داده شد که بهبود معنی‌دار Vo2max به تفاوت-های ژنوتیپی آن‌ها بستگی نداشت و بین ژنوتیپ‌های AT و TT پلی‌مورفیسم rs1870377 ژن VEGFR و تغییرات عملکرد هوازی زنان تمرین نکرده چاق بعد از هشت هفته تمرین هوازی رابطه معنی‌داری مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: ژنوتیپ AT، ژنوتیپ TT، VEGFR، تمرین هوازی، چاقی، VO2max.

مقدمه

مطالعات متعددی نشان داده‌اند فعالیت‌های ورزشی به مشارکت پدیده‌هایی مانند عوامل محیطی، فیزیولوژیکی،

روانی و ویژگی‌های ژنتیک بستگی دارد. متغیرهای توالی DNA با ویژگی‌های درگیر در فعالیت‌های جسمانی ورزشکاران همراه است و توانایی‌هایی مانند ظرفیت استقامتی، توان و کارایی عضلانی، احتمال آسیب دیدگی، ترکیب بدنی و ویژگی‌های روانی توسط ژن‌های مخصوص تعیین می‌شوند. اجرای ورزشی اختصاصی هر فرد دارای حمایت ژنتیکی می‌تواند اثر مطلوبی بر راهبردهای تمرینی مربیّان و ورزشکاران داشته باشد. بهینه‌سازی اجرای ورزشی و آمادگی جسمانی همچنین، می‌تواند با اهداف مرتبط با سلامت هم در ارتباط باشد (۳). پیش بینی اجرای ورزشی و بررسی پروفایل ژنتیکی افراد حداقل از دو دیدگاه، فواید عمده‌ای را می‌تواند به - دنبال داشته باشد: اول، برای انتخاب نوع ورزش یا فعالیت بدنی برای ورزشکار، دوم، اختصاصی‌سازی طراحی تمرین و بهینه‌سازی تمرینات ورزشی. توانایی ژنتیکی افراد برای اجرای فعالیت ورزشی باعث می‌شود که سقف فیزیولوژیکی ورزشکار برای نوعی از فعالیت ورزشی از انواع دیگر فعالیت‌های ورزشی، بالاتر یا پایین-تر باشد. از سوی دیگر، در طراحی تمرینات هم می‌توان از پروفایل ژنتیکی و ویژگی‌های منحصر به فرد هر کدام از ورزشکاران برای انتخاب بهترین پروتکل تمرینی برای دست‌یابی به بالاترین عملکرد بهره جست (۲٤).

مطالعات جدید در حیطه ژنوم انسان باعث شده است که در حیطه درمان نیز برای هر فرد ویژگی‌های مخصوص تعریف شود و درمان اختصاصی هر فردی نسبت به دیگران متفاوت باشد. تفاوت‌های ژنتیکی افراد می‌توانند در بیماری‌هایی مانند مشکلات قلبی-عروقی، دیابت و سرطان به وضوح خود را نشان دهند. آگاهی از این ویژگی‌ها می‌تواند نقش موثری در درمان این بیماری‌ها داشته باشد. در کنار این خصوصیات، استفاده از ابزارهای تغذیه‌ای، کنترل دخانیات، اصلاح سبک زندگی و کیفیت سرویس‌های درمانی و بهداشتی می‌تواند به عنوان ابزارهای غیرژنتیک، به روند درمان یاری رسانند. موارد فوق نشان می‌دهند که آگاهی از ویژگی‌های ژنتیکی می‌تواند در بهبود اجرای ورزشی و اهداف مرتبط با سلامت دارای اثر بخشی شایسته‌ای باشد (٤، ۱۹، ۲۲).

اجرای فعالیت استقامتی و ورزش‌های هوازی و همچنین، ورزش‌هایی که از ترکیب هوازی و بی هوازی استفاده می‌کنند به توان هوازی ورزشکاران وابسته است. توان هوازی به قابلیت بدن ورزشکار برای برداشت و مصرف اکسیژن بستگی دارد و اینکه بدن تا چه حد بتواند در طول ورزش از این ظرفیت استفاده نماید. مشخص شده است که توان هوازی تا حد زیادی به پایه‌های ژنتیکی افراد وابسته است و ویژگی‌های ژنتیکی به طور معنی‌داری با توانایی اجرای ورزش استقامتی افراد همبستگی دارد. ژن‌ها نقش مهمی در ظرفیت قلبی –عروقی دارند (۲٦).

به طور مشخص ژن‌های درگیر در رگ‌زایی و اتساع عروقی مورد مطالعات جدی قرار گرفته‌اند و نشان داده شده است که ورزشکاران نخبه استقامتی از وجود انواع خاصی از این ژن‌ها در برداشت و مصرف اکسیژن و نیز در فراهمی انرژی در متابولیسم هوازی بهره‌مند هستند. ژن‌هایی مانند ACE (۲٦، ٤۱)، BDKRB2 (۳۹، ٤۰)، NOS3 (۳٤)، HIF1 (۲۵) و VEGF (۱٦، ۳۲) در فراهمی اکسیژن برای عضلات اسکلتی و تولید انرژی نقش دارند. این فراهمی، می‌تواند در افزایش و بهبود فعالیت استقامتی مهم باشد. برخی از ژن‌های درگیر در بهبود عملکرد و تعداد سلول‌های خونی مانند ژن *EPOR* (۲۰، ۳۰) و HBB (۱٤) با افزایش دسترسی عضلات با اکسیژن در همراه هستند.

بسیار از عوامل ژنتیکی در تولید انرژی و فراهمی اکسیژن نقش دارند. همکاری پیچیده‌ای که بین ژنتیک، بیان پروتئین‌ها، عوامل سلولی و مولکولی و سایر بخش‌های مرتبط با متابولیسم وجود دارند، در نهایت، منجر به زندگی و ارگانیسم موجود ما می‌شوند. در متابولیسم هوازی همین پیچیدگی‌ها وجود دارد و عوامل قلبی – عروقی متعدد باعث می‌شوند که سطح محدودیت‌های هوازی تعیین شود. در این میان عوامل ژنتیکی نیز نقش مبنایی دارند. عروق خونی به عنوان مسیرهای ارتباطی

برای بسیاری از ابزار انرژی و متابولیکی، نقش منحصر به فردی دارند. نقش تمرینات ورزشی در سازگاری‌های مربروط به عروق نیز شناخته شده است.

فاکتور رشد آندوتلیال عروقی (VEGF) از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های اختصاصی آنژیوژنز است. این فاکتورهای رشد آندوتلیال عروقی عمل زیستی خود را روی سلول-های هدف از طریق میان کنش با گیرنده‌های تیروزین کینازی موجود در غشای پلاسمایی سلول به انجام می-رسانند. پروتئین VEGF حدود ۲۵ تا ٤٥ کیلو دالتون است که اغلب توسط سلول‌های اندوتلیالی، عضلهٔ صاف، تاندون، پلاکت‌ها، تیموس و عضله‌ی اسکلتی ترشح می-شود. VEGF اعمال خود را از طریق گیرنده خود، یعنی VEGFR، که در سطوح سلولی مستقر است انجام می‌دهد. در واقع، VEGF برای دستیابی به سطوح درون عروقی و ترتیب اثر دادن در آن باید به گیرنده خود اتصال یابد. سه نوع VEGFR به شماره‌های ۱، ۲ و ۳ وجود دارد که هرکدام با اتصال به VEGF اختصاصی خود باعث آثاری در اندوتلیال می‌گردند (۷).

نیتریک اکساید سنتاز (NOS3) پروتئینی است که توسط ژن NOS3 در بدن انسان کدگذاری می‌شود و در بسیاری از بیماری‌های قلبی–عروقی از آثار این ژن نام برده شده است. آثار NOS3 از طریق همکاری با نیتریک اکسید (NO) در بدن نمایان می‌شوند. NO گازیست که نیمه عمری چند ثانیه‌ای دارد و آثار بیولوژیک و بیوشیمیایی متنوعی را به وجود می‌آورد. در بسیاری از این اعمال، نیتریک اکسید به عنوان یک مولکول پیام‌رسان عمل می-کند. NO در بدن توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتاز از اسید آمینه ال آرژنین سنتز می‌شود. این آنزیم دارای سه ایزوفرم اصلی شامل عصبی، اندوتلیالی و القایی است (٤٥). NO در سیستم عصبی به عنوان یک نروترانسمیتر عمل می‌کند و عملکرد آن در سیستم قلبی –عروقی به عنوان یک عامل شل کننده عروقی مشتق از اندوتلیوم شناخته شده است. No در بسیاری از عملکردهای سیستم تناسلی هم نقش دارد (۸).

جریان خون مناسب و فشار خون از عوامل معنی‌دار در ورزش و بهداشت فردی هستند و نشان داده شده است که NO در تنظیم جریان و فشار خون مؤثر است. تحقیقات از نقش NO در خون‌رسانی به عضلات فعال در حین ورزش حمایت کرده‌اند (۲۵، ۲۷، ۲۸).

بنابراین، تولید NO و همکاری NOS3 می‌تواند در تنظیم قلبی –عروقی در حین ورزش تأثیرگذار باشد. در یکی از پلی‌مورفیسم‌های NOS3 (T786C) آثار مرتبط با اسپاسم کرونری، پر فشار خونی (۲۱) و نروپاتی دیابت در دیابت نوع ۱ مشاهده شده است (۳۸). eNOS در سرطان دارای نقش است و در آنژیوژنز و آپوپتوز مرتبط با سرطان دخالت دارد (٤۲). نقش میانجی‌گری eNOS در آنژیوژنز هم نشان داده شده است (۱۵).

با توجه پیشینه مطالعات انجام شده این احتمال مطرح است برخی پلی مورفیسم‌های ژن‌های VEGF، *EPOR* و NOS3 می‌تواند در تنظیم و سازگاری با تمرینات ورزشی تأثیرگذار باشد و تعیین پروفایل ژنتیکی افراد می‌تواند در مقایسه با تمرینات ورزشی و سازگاری‌های ناشی از آن مورد مطالعه قرار بگیرد، تا روشن شود که به چه اندازه ویژگی‌های ژنتیکی می‌توانند سازگاری‌های به ورزش استقامتی را در افراد تمرین نکرده تحت تأثیر قرار دهد. بر همین اساس، پروفایل ژنتیکی داوطلبان شامل ژن‌های AT و TT پلی مورفیسم *rs1870377* ژن VEGFR و تغییرات عملکرد هوازی زنان تمرین نکرده بعد از دوره تمرینی مورد بحث مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت. همچنین، مقادیر *VO2max* پیش و پس از یک دوره تمرین استقامتی اندازه‌گیری می‌شود. در نهایت، به این سوال پاسخ داده خواهد شد که آیا وضعیت ژنتیکی ژن‌های مورد بحث می‌تواند در وضعیت اجرای هوازی و تمرین پذیری آن‌ها اثر گذار باشد یا خیر؟

مواد و روش‌ها

زنان ۳۰ تا ٤٥ ساله شهرستان شهریار در استان تهران که دارای اضافه وزن و چاقی بودند به عنوان جامعه آماری

انتخاب شدند. و از این بین ۲۹ زن غیر فعال ۳۰ تا ٤٥ ساله که به صورت تصادفی از زنان داوطلب شهرستان شهریار با شاخص توده بدنی بالای ۳۰ انتخاب شدند. هیچ کدام، محدودیت خاص جسمانی برای انجام فعالیت بدنی نداشتند و در ۳ ماه قبل انجام پژوهش تحت هیچ درمان دارویی قرار نگرفتند. ملاک‌های ورود آزمودنی‌ها به پژوهش عبارت بودند از اینکه: آزمودنی‌ها دارای فعالیت ورزشی مستمر نبوده و از انجام فعالیت منظمی برخوردار نبودند و هیچ کدام از آن‌ها به جزء فعالیت‌های معمول خانه‌داری، فعالیت جسمانی خاصی نداشتند و در عین حال همگی برای مشارکت در این طرح اعلام رضایت کرده و قبول کرده بودند که در تمامی جلسات اعم از جلسات توجیهی، آزمون‌ها و تمرینات حضور موثر داشته باشند. برای تعیین میزان VO2max از آزمون بروس، پیش و پس از تمرینات استفاده شد. مقرر شد که در ساعت ۵ عصر روز پیش آزمون و پس آزمون اندازه-گیری توان هوازی صورت پذیرد تا از آثار چرخه شبانه-روزی کمترین مداخله اتفاق بیفتد. علاوه بر این، آزمون‌ها حداقل یک هفته بعد از چرخه ماهیانه آزمودنی‌ها اجرا شد. همچنین، از آزمودنی‌ها خواسته شد که حداقل ۳ ساعت از آخرین وعده غذایی آن‌ها گذشته باشد و از وعده غذایی استفاده کنند که حداکثر ۳۰ درصد حجم آن را پروتئین و چربی تشکیل داده باشد. آموزش‌های لازم در خصوص نوع پوشش مخصوصاً کفش مناسب به آن‌ها ارائه شد و این اطمینان برای آن‌ها حاصل شد که همواره کارشناسان ورزش ایمنی و کیفیت لازم را برای اجرای پروتکل آزمون تحت نظر دارند. در حین اجرای آزمون تمام موارد ایمنی رعایت شد و از دو نفر کارشناس برای نظارت بر نکات فنی و همجنین، ایمنی بهره‌بردای شد. قبل از اجرای آزمون نکات مهم و اثرگذار روی آزمون برای آزمودنی‌ها توضیح داده شد و از آن‌ها خواسته شد تا حد امکان به اجرای خود ادامه دهند و اگر علائم خطر آفرینی مانند سرگیجه را درک کردند به سرعت به کارشناسان اطلاع دهند. بر اساس پروتکل آزمون بروس از تردمیل مدل ۲۹۷۰ کمپانی *impulse* استفاده شد و در مرحله اول با سرعت ۲/۷ کیلومتر بر ساعت و شیب ۱۰ درجه آغاز و هر سه دقیقه یک بار به شیب و سرعت تردمیل اضافه گردید. در سه دقیقه دوم سرعت تردمیل به ٤ کیلومتر در دقیقه افزایش یافت و شیب هم روی ۱۲ درجه تنظیم گردید. به همین ترتیب، پس از سه دقیقه سرعت به ۵/۵ و شیب به ١٤ درجه ارتقاء یافت. این روند همین‌طور ادامه می‌یافت تا جایی که آزمودنی‌ها قادر به ادامه فعالیت نبودند. همان‌طور که ذکر شد زمانی که آزمودنی قادر به ادامه فعالیت نبود مدت زمان انجام آزمون به دقت ثبت و پس از قرار دادن آن در فرمول‌های استاندارد میزان *VO2max* ثبت گردید. برای به دست آوردن *VO2max* از فرمول استاندارد به شرح زیر برای زنان استفاده شده است. در این فرمول اعداد به عنوان عدد ثابت و T به‌عنوان مدت زمان راه رفتن/دویدن به دقیقه و ثانیه مورد استفاده قرار گرفت است (۳۷).

برای سنجش توده بدنی، از فرمول مرسوم BMI شامل تقسیم وزن بر مجذور قد (متر) استفاده شد. همچنین، بررسی برخی از شاخص‌های مرتبط با وضعیت پیکری مانند وزن و درک بهتر از وضعیت جسمانی داوطلبان از روش سنجش ترکیب بدنی مغناطیسی به وسیله دستگاه *in body* ساخت کشور کره جنوبی استفاده شد. قد آزمودنی‌ها از طریق قدسنج مخصوص دیواری و بدون کفش انجام پذیرفت. تمام سنجش‌های فوق در کنار یک کارشناس پیکرسنج انجام پذیرفت و برای آزمون‌های پیکرسنجی حداقل دو بار آزمون‌ها انجام گرفت. مشخصات پایه آزمودنی‌های پژوهش در جدول ۱ آمده است.

پروتکل تمرینی: پس از اطمینان از آشنایی داوطلبان با شرایط تمرین که در یک جلسه توجیهی انجام شد، هشت هفته تمرین هوازی با تواتر ۵ جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه با شدت ۵۵ تا ۷۵ درصد ضربان قلب ذخیره برای این طرح مورد استفاده قرار گرفت و آزمودنی‌ها در

دو هفته اول با ۵۵ تا ٦٥ درصد ضربان قلب بیشینه، در دو هفته دوم با ٦٠ تا ٦٥ درصد ضربان قلب بیشینه و باقی زمان را تا پایان دوره با ٦٥ تا ۷۵ درصد ضربان قلب بیشینه به تمرین پرداختند. ۱۰ دقیقه برای گرم کردن و ۱۰ دقیقه برای سرد کردن در هر جلسه تمرینی در نظر گرفته شد. تمرینات در سالنی که به ورزش‌های توپی مانند والیبال و فوتبال اختصاص داشت، انجام پذیرفت (۵). در طول تمام دوره تمرینات دونفر مربی/کارشناس در کنار آزمودنی‌ها قرار داشت و تمرینات را با دقت زیر نظر قرار داشتند. تمام جلسات تمرینی بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح انجام پذیرفت و جلسات آزمون بروس نیز هم پیش و هم پس از دوره تمرینی حدود ساعت ۱۰ صبح برگزار گردید. بین ٤٨ تا ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، داوطلبان در پس آزمون *VO2max* که مانند پیش آزمون توسط آزمون بروس برگزار شد، مشارکت جسته و پس از محاسبات لازم، مقادیر ثبت و برای ادامه پژوهش مورد استفاده قرار گرفت.

نمونه‌گیری و مراحل آزمایشگاهی: از بین آزمودنی‌هایی که توانستند دوره تمرینی را با شرایطی که مد نظر محققان قرار داشت سپری کنند، نمونه‌گیری بزاقی برای توالی یابی DNA برای تعیین ژنوتیپ‌ها انجام گرفت. در همین خصوص و در این بخش، مراحل تجربی پژوهش حاضر تفضیل معرفی می‌شود. این مراحل به ترتیب عبارتند از: نمونه‌گیری؛ استخراج دی‌ان‌ای ژنومی؛ طراحی پرایمر؛ ستاپ کردن پرایمر و تعیین ژنوتیپ ژن‌ها. برای مطالعه حاضر نمونه گیری از بزاق انجام گرفت. پس از اخذ نمونه بزاق، محلول نگهدارنده به آن‌ها اضافه شد و به آزمایشگاه منتقل شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت شرکت ژن ورز و به صورت زیر انجام گرفت:

ابتدا از هر آزمودنی ۳ میلی‌لیتر بزاق، جمع‌آوری شد، سپس به هر نمونه ۳ میلی‌لیتر محلول نگهدارنده اضافه شد، پس از آن ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول بزاق به یک فالکون اسریل جدید انتقال داده شد، سپس، با اضافه کردن ۲/۵ میلی‌لیتر بافر لیز کننده به محلول بزاق، در مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شدند. سپس، ۳۰ دقیقه در دمای اتاق گذاشته شد و پس از آن ۳۰ میکرولیتر *Rnase A* اضافه و مجدداً ورتکس شدند. در ادامه نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت نگهداری شدند و ٤٠ میکرولیتر پروتئیناز K به آن‌ها اضافه شده، سپس به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شدند. سپس، به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند، و ۲ میلی‌لیتر محلول NaCl 6M به محلول بالا اضافه شده و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شدند. در ادامه به مدت ۱۰ دقیقه روی یخ قرار داده شدند. محلول حاصله به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه و دور 12000 RPM؛ سانتریفیوژ شد وبرای انتقال به یک فالکون جدید برداشته شده و و دوباره با شرایط بالا سانتریفیوژ شدند، انتقال محلول روی به یک فالکون جدید و اضافه کردن ۷ میلی لیتر ایزوپروپانول سرد روی نمونه‌ها انجام گرفت. سپس، فالکون چندین بار سروته شد، محلول حاصله به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه و دور W,10000 RPM؛ سانتریفیوژ شده و ۲ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد سرد اضافه شد، سانتریفیوژ محلول حاصله به مدت ۳ دقیقه در دمای ٤ درجه و دور 8000 RPM، انجام گرفت و محلول روی دور ریخته شد و نمونه‌های DNA در دمای اتاق گذاشته شدند تا کامل خشک شدند و سپس ۵۰۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر استریل به آن‌ها اضافه شد و نمونه‌ها سپس، در دمای منفی ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند تا برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گیرند.

طراحی پرایمر: جهت طراحی پرایمرها از نرم‌افزار oligo7 استفاده شد. پس از طراحی پرایمرها جهت اطمینان از اختصاصی بودن پرایمرها از نرم افزار primer-blast موجود در پایگاه داده NCBI استفاده شد. پس از اطمینان از اختصاصی بودن عملکرد پرایمرها، پرایمرها جهت سنتز به شرکت سیناکلون سفارش داده شدند. پرایمرهای دریافتی به‌صورت لیوفیلیزه‌اند که با افزودن

مقادیر مشخص آب با توجه به اطلاعات همراه پرایمر باید به غلظت ۱۰۰ پیکومولار رسانده شود تا به‌عنوان محلول اصلی مورد استفاده قرار گیرد. از این محلول رقت ۰/۰۵ تهیه و به عنوان محلول کاری استفاده می‌شود. تمامی استوک‌های تهیه شده در دمای ۲۰- سانتیگراد نگهداری شدند. در این مرحله برای هر جفت از پرایمرهای طراحی شده، از واکنش PCR شیب دمایی جهت یافتن بهترین دمای اتصال پرایمر استفاده می‌شود. مواد و وسایل مورد نیاز نیز عبارتند از: DNA، Master mix 2X، پرایمر بالا دست و پایین دست (5 pM)، آب دیونیزه، دستگاه ترمال سایکلر ABI. مراحل ستاپ کردن پرایمر: الف – در یک میکروتیوب استریل ۰/۲ میلی لیتری مواد جدول ۲ اضافه گردید. ب – میکروتیوب در دستگاه ترمال سایکلر گذاشته شود و PCR بر اساس شرایط جدول ۳ اجرا شد. ج- پس از اتمام واکنش، ۳ میکرولیتر از محصول PCR جهت اطمینان از تکثیر بهینه روی ژل آگارز ۱ درصد مورد بررسی قرار گرفت. بعد از مشخص شدن دمای مناسب برای هر سه جفت پرایمر سنتز شده PCR تمامی نمونه‌ها با شرایط ایده‌آل به‌دست آمده انجام شد و برای تأیید تکثیر صحیح قطعه مورد نظر ۲ میکرو لیتر از محصول PCR روی ژل اگارز ۰/۱ درصد برده شد.

تعیین ژنوتیپ ژن: جهت تعیین ژنوتیپ ژن از روش RFLP استفاده شد. انجام هضم آنزیمی در دمای ٦٥ درجه سانتیگراد و به صورت overnight شامل یک میکرولیتر آنزیم، ۳ میکرولیتر محصول PCR، ۲ میکرولیتر بافر مخصوص و ۱۵ میکرولیتر آب دیونیزه می‌باشد. پس از هضم آنزیمی، محصول هضم آنزیمی روی ژل پلی اکریل امید ۱۲ درصد جهت مشاهده قطعات برش یافته الکتروفورز شد. و سه نمونه با ژنوتیپ‌های مختلف برای توالی‌یابی به شرکت کدون فرستاده شدند. پس از تعیین ژنوتیپ ژن‌های مورد بحث، ژنوتیپ‌های مختلف با اجرای ورزشی آن‌ها مورد مقایسه قرار گرفت و از روش آماری مخصوص برای مقایسه ژنوتیپ‌ها و تغییرات در میزان VO2max مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه و **تحلیل داده‌ها:** جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین متغیرها قبل و پس از تمرین از آزمون t وابسته استفاده شد. مقایسه *VO2max* آزمودنی-های دوگروه دارای ژنوتیپ AT و TT پس از مداخله تمرینی با استفاده از نمودار گزارش شده است.

جدول ۱- اطلاعات پایه آزمودنی‌ها (قد، وزن، BMI، سن) پیش از شروع تمرینات ورزشی

توان هوازی پس از تمرین (VO2max)	توان هوازی قبل از تمرین (VO2max)	سن (سال)	قد (سانتی‌متر)	شاخص توده بدنی (BMI)	توده بدن (کیلوگرم)
۳۵/٦۱	۲۹/۱۲	۳۹/۱۳ ± ۸/۱۳	۱٥۷/٤٤ ± ١٤/٥٥	۳۰/٦۹	۷٥/۲۷ ± ۲٥/۷۲

جدول ۲- مقدار مواد مورد نیاز در مرحله اول ستاپ کردن پرایمر

Master mix2X[amplicon]	۷/٥ میکرولیتر
پرایمر بالادست (5pM)	۰/۸ میکرولیتر
پرایمر پایین‌دست (5pM)	۰/۸ میکرولیتر
دی‌ان‌ای	۱ میکرولیتر
آب دیونیزه	٥ میکرولیتر

جدول ۳- شرایط اجرای PCR

مراحل	دما (درجه سانتیگراد)	زمان	تعداد سیکل
دناتوراسیون اولیه	۹۴ درجه سانتیگراد	۷ دقیقه	۱
دناتوراسیون	۹۴ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	
Annealing	۶۰ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	۳۵
Extention	۷۲ درجه سانتیگراد	۶۰ ثانیه	
Final Extention	۷۲ درجه سانتیگراد	۷ دقیقه	۱

نتایج

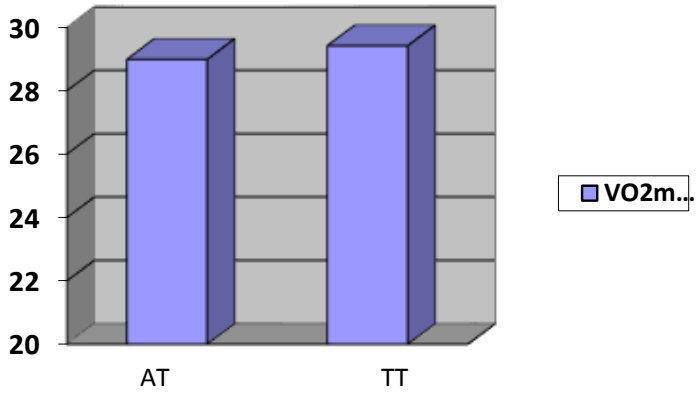
نتایج حاصل از وضعیت VO2max آزمودنی‌ها قبل و بعد از مداخله ورزشی در آزمودنی‌ها با ژنوتیپ‌های AT و TT در جداول ٤ و ٥ آمده است. ضمن اینکه نمودار ۱ به مقایسه VO2max آزمودنی‌های گروه دارای ژنوتیپ AT و TT پس از مداخله تمرینی می‌پردازد. همان‌طور که در جدول خروجی تجزیه و تحلیل آماری نشان داده شده است میزان VO2max در زنانی که دارای ژنوتیپ AT بودند به طور میانگین قبل و بعد از مداخله ورزشی، معنی‌دار نبوده است (p = ۰/۸٤۰). مطابق یافته‌های جدول خروجی تجزیه و تحلیل آماری نشان داده شده است که میزان VO2max در زنانی که دارای ژنوتیپ AT بودند به طور میانگین پیش و پس از مداخله ورزشی، معنی‌دار نبوده است (p = ۰/٦۳۳). بر اساس نتایج نمودار ۱ میان گروه‌های دارای AT و TT پس از مداخله ورزشی تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.

جدول ٤- نتایج مقایسه میانگین درون گروه‌ها از نظر میزان *VO2max* در زنانی دارای ژنوتیپ AT پیش و پس از مداخله تمرینی

متغیر	اختلاف میانگین‌ها	درجه آزادی	سطح معنی‌داری	t
VO2max	-۰/٤۲۲	۲٦	۰/۸٤	-۰/۲۰٤

جدول ٥- نتایج مقایسه میانگین درون گروه‌ها از نظر میزان *VO2max* در زنانی دارای ژنوتیپ TT پیش و پس از مداخله تمرینی

متغیر	اختلاف میانگین‌ها	درجه آزادی	سطح معنی‌داری	t
VO2max	-۱/۱۹۲	۲٦	۰/٦۳۳	-۰/٤۸٤



نمودار ۱- مقایسه *VO2max* آزمودنی‌های گروه‌های دارای AT و TT پس از مداخله تمرینی

بحث

اینکه تغییرات در مقادیر توان هوازی به چه دلایل فیزیولوژیک و سلولی- مولکولی وابسته است سال‌ها مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است و نشان داده شده است که بسیاری از ژن‌ها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و عوامل بیوشیمیایی در کنار تغییرات فیزیولوژیکی مانند افزایش حجم خون، افزایش برون‌ده قلبی، افزایش حجم ضربه‌ای و.. در این موضوع دخالت دارند. عوامل آنژیوژنزی هم دارای سهم بسزایی در این میان هستند و نقش VEGF در این موضوع به دفعات مورد توجه بوده است. در تحقیق حاضر و در مقایسه بین ژنوتیپ‌های AT و TT تفاوت معنی‌داری بین VO2max آزمودنی‌ها پیش از اعمال و مداخله هوازی دیده نشد. در عین حال پس از مداخله تمرینی نیز اختلاف معنی‌داری بین دو ژنوتیپ مشاهده نگردید. این موضوع که توان هوازی آزمودنی‌ها پس از یک دوره تمرینی هوازی نسبت به ژنوتیپ آن‌ها بستگی نداشت، در حالی مشاهده شد که هر دو گروه با بهبود توان هوازی مواجه شده بودند. این بدین معنی است که بهبود معنی‌داری که در Vo2max آزمودنی‌ها ملاحظه شد به تفاوت‌های ژنوتیپی آن‌ها بستگی نداشت.

در مورد اثر ژن VEGFR و تغییرات بیان ژن نسبت به تمرینات ورزشی پیشینه قابل اعتنا و اعتمادی وجود دارد و نشان داده شده است که گیرنده پروتئین VEGF در همکاری با پروتئین VEGF آثار خود را به جا می‌گذارد. فعالیت بیولوژیکی VEGF از طریق گیرنده‌های این ژن، شامل VEGFR1, VEGFR2,VEGFR3 انجام می‌گیرد (٦) همان‌طور که در مطالعات نشان داده شده است که بیان mRNA ژن VEGF در پی تمرینات ورزشی افزایش یافته است، VEGFR نیز در مطالعات مورد بررسی قرار گرفته و افزایش mRNA آن گزارش شده است. در همین موضوع افزایش mRNA مربوط به VEGFR در پی تمرینات منظم و حاد ورزشی گزارش شده است (۱۲، ۱۵). در مطالعات دیگر هم گزارش شده است که یکی از دستاوردهای اصلی تمرینات هوازی، افزایش ظرفیت مصرف اکسیژن است. در این اتفاق، برخی از فاکتورهای آنژیوژنزی نقش دارند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی است. مشاهده شده است پس از ۳۰ تا ٤٥ دقیقه تمرین باز و بسته شدن زانو میزان mRNA مربوط به VEGF در عضله پهن جانبی، به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است (٤٣).

در تحقیق پاملا و همکاران (۲۰۰٤) نشان داده شده است که VEGFR در آنژیوژنز ناشی از ایسکمی عضلانی که با فعالیت‌های ورزشی همراه بوده است، مشارکت دارد. وقتی که به‌وسیله روش‌های آزمایشگاهی خاص VEGFR سرکوب شده بود مشخص شد که فعالیت‌های مرتبط با وازودیلیشن (اتساع عروقی) مختل شدند (۲۹). این موضوع نشان‌دهنده ضرورت وجود این گیرنده در سیگنالینگ مربوط به فعالیت‌های اندوتلیالی است.

پلی‌مورفیسم *rs1870377* یکی از پلی مورفیسم‌های عملکردی VEGFR است. ارتباط این پلی مورفیسم با چندین وضعیت کلینیکی شناخته شده است که نشان-دهنده اهمیت آن است (۹, ۱۱).

مطابق فرض تحقیق حاضر، پلی‌مورفیسم *rs1870377* ژن VEGFR که مورد مطالعه این تحقیق و تفاوت‌های ژنوتیپی مورد بحث ما (ژنوتیپ AT در برابر ژنوتیپ TT) است، در تغییرات *Vo2max* در زنان بی تحرک دارای اضافه وزن، معنی‌دار نبود. یعنی اینکه ما نتوانستیم نشان دهیم که حاملین ژنوتیپ AT و TT نسبت به سازگاری با تمرینات هوازی و افزایش Vo2max با هم تفاوتی داشته باشند.

یافته‌های ما متفاوت با آن چیزی بود که در تحقیق دانشمندان روس در سال ۲۰۰۹ گزارش شد. آن‌ها برای درک نقش *rs1870377* ژن VEGFR بر توانایی‌های استقامتی با مطالعه روی گروهی از مردان سالم فعال، اسکیت سواران سرعت و دوندگان استقامتی، گزارش

کردند که استقامتی‌ها، نسبت به گروه کنترل از از آلل *Glu* بیشتری برخوردار بودند. همچنین، در این تحقیق مشخص شد که بانوان قایقران حامل آلل *Glu* از Vo2max بالاتری نسبت به *His/His homozygotes* برخوردار بودند در همین راستا، نشان داده شد که حاملین *GLU/HIS* و *GLU/GLU* هردو، از حاملین *HIS/HIS* از مقادیر بیشتری از تارهای کند انقباض برخوردار بودند (۱۳).

در همین راستا و در مطالعه‌ای که با هدف مقایسه بین ژنوتیپ‌های مختلف ژن VEGFR2، ترکیب تارهای عضلانی و VO2max در آزمودنی‌های سالم و فعال و همچنین، از اسکیت‌سواران سرعت و دونده‌های رقابتی، انتخاب شده بودند، مشخص گردید که تواتر آلل *Gln* به‌طور معنی‌داری در دوندگان و ورزشکاران استقامتی نسبت به گروه کنترل ببیشتر است. به همین تناسب حاملین آلل Gln از *VO2max* بالاتری نیز برخوردار بودند. این یافته باعث شد که محققان ادعا کنند که توانسته‌اند برای اولین بار نقش ژنوتیپ‌های مختلف VEGFR را روی اجرای ورزشی نشان داده‌اند (۱۳).

این در حالیست که یافته‌های پژوهش ما نتوانست بین ژنوتیپ‌های مختلف تفاوت معنی‌داری را گزارش نماید.

اخیراً تلاش‌هایی برای درک و کشف ژن‌های درگیر در VO2max مانند ترکیب نوع تارهای عضلانی، صورت گرفته است که نشان می‌دهد ژنوتیپ برخی از ژن‌ها در این موضوع دخالت دارند. در تحقیق که توسط دانشمندان ژاپنی صورت گرفته است نشان داده‌اند که حداقل در مورد ژن‌های ACE و VEGFR نتوانستند رابطه‌ای بین تارهای اکسایشی و ژنوتیپ پیدا کنند. این دانشمندان تفاوت‌های جنسیتی را نیز مورد مطالعه قرار دادند. در واقع، این مطالعه به عنوان اولین مطالعه‌ای بود که پلی‌مورفیسم ژنی و تفاوت‌های جنسیتی را در تعیین نوع تارهای عضلانی مورد بررسی قرار می داد. در این مطالعه از ۲۱۱ آزمودنی ژاپنی شامل ۱۰۲ مرد و ۱۰۹ زن استفاده شد. در این مطالعه پولی مورفیسم‌های ژن‌های ACTN3; rs4341 ،ACE ،*rs11549465)* HIF) و *rs1815739*، VEGFR2 (*rs1870377*) استفاده شد. پژوهشگران نتوانستند رابطه‌ای بین پلی‌مورفیسم *rs1870377* ژن VEGFR و نوع تار عضلانی پیدا کنند. هر چند این موضوع در ژن ACTN3 این‌گونه نبود (۳۳). نتایج این مطالعه در خصوص پلی‌مورفیسم rs1870377 را می‌توان به نوعی همسو با یافته‌های تحقیق حاضر تلقی کرد. این تعبیر ریشه در این واقعیت دارد که نوع ترکیب تارهای عضلانی در *VO2max* اثرگذار است و تارهای کند انقباض برای دستیابی به توان هوازی بالاتر مجهز تر از تارهای تند انقباض هستند.

بررسی پلی‌مورفیسم *rs1870377* ژن VEGFR و اثر آن بر نوع تار عضلانی در مطالعات دیگر مورد مطالعه قرار گرفته است و نتایج متمایزی به دست آمده است. در همین جهت در مطالعه آمتوف و همکاران ۲۰۰۸ نشان داده شد که ژنوتیپ این پلی‌مورفیسم می‌تواند با نوع تار عضلانی هم‌خوانی داشته باشد (۱۸).

با توجه به آثار بیولوژیک VEGF و گیرنده‌اش روی عروق و سازگاری‌های عروقی که آنژیوژنز از مهم‌ترین آن‌هاست و همچنین، به دلیل این سازگاری‌ها در تأمین انرژی و اکسیژن، اهمیت عملکردی VEGF در آمادگی و سلامت قلب و عروق مورد توجه است.

در مطالعات مختلف نشان داده شده است که بین فاکتورهای ژنتیکی و سلامت قلب رابطه وجود دارد. در همین موضوع ارتباط بین بیماری‌های قلبی عروقی و VEGFR مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده است که ژنوتیپ CT در پلی‌مورفیسم *rs3025039*، ژنوتیپ TT در پلی‌مورفیسم *rs2305948*، و ژنوتیپ AA در پلی‌مورفیسم *rs1873077* با کاهش ریسک قلبی عروقی در افرادی که سیگار یا مشروبات الکلی مصرف می‌کنند یا به بیماری دیابت دچار هستند، همراه هستند. در این مورد نشان داده شد که آثار ترکیبی این ژنوتیپ‌ها نیز می‌تواند بر کاهش ریسک‌های قلبی – عروقی اثرگذار باشد (۳۶).

تحقیقات زیادی روی ژنوتیپ‌های VEGFR و مشخصاً در مورد پلی‌مورفیسم *rs1870377* انجام نشده است که بتوان با استناد به آن‌ها و در مقایسه با نتایج حاضر به جمع‌بندی مناسبی در این باره پرداخت. در عین حال واضح است که اعمال مربوط به VEGF از طریق لیگاند (گیرنده) مخصوص انجام می‌گیرد که گیرنده این پروتئین محسوب می‌شوند.

در هر صورت دو گیرنده اصلی VEGFR، شامل دو نوع VEGFR1 و VEGFR2 است که نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، بین ژنوتیپ‌های AT و TT پلی‌مورفیسم *rs1870377* ژن VEGFR و تغییرات عملکرد هوازی زنان تمرین نکرده بعد از هشت هفته تمرین هوازی رابطه معنی‌داری مشاهده نشد.

منابع

1. Ahmetov I., Khakimullina A., Popov D., Missina S., Vinogradova O., Rogozkin V. 2008. Polymorphism of the vascular endothelial growth factor gene (VEGF) and aerobic performance in athletes. *Human Physiology*, 34(4):477-481.

2. Bentley D.J., Roels B., Thomas C., Ives R., Mercier J., Millet G., Cameron-Smith D. 2009. The relationship between monocarboxylate transporters 1 and 4 expression in skeletal muscle and endurance performance in athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 106(3):465-471.

3. Bouchard C., Sarzynski M.A., Rice T.K., Kraus W.E., Church T.S., Sung Y.J, Rao D.C., Rankinen T. 2011. Genomic predictors of the maximal O2 uptake response to standardized exercise training programs. *Journal of Applied Physiology*, 110(5): 1160-1170.

4. Brutsaert T.D., Parra E.J. 2006. What makes a champion?: Explaining variation in human athletic performance. *Respiratory physiology & neurobiology*. 151: 109-123.

5. Duffy S.J., New G., Tran B.T., Harper R.W., Meredith I.T. 1999. Relative contribution of vasodilator prostanoids and NO to metabolic vasodilation in the human forearm. American *Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 276(2):H663-H670.

6. Dyke C.K., Proctor D.N., Dietz N.M., Joyner M.J. 1995. Role of nitric oxide in exercise hyperaemia during prolonged rhythmic handgripping in humans. *The Journal of Physiology*, 488(1):259-265.

7. Echegaray M., Rivera M.A. 2001. Role of creatine kinase isoenzymes on muscular and cardiorespiratory endurance. *Sports Medicine*, 31(13):919-934.

8. Eynon N., Alves A.J., Meckel Y., Yamin C., Ayalon M., Sagiv M. 2010. Is the interaction between HIF1A P582S and ACTN3 R577X determinant for power/sprint performance? *Metabolism*, 59(6):861-865.

9. Ferrara N. 1999. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *Journal of Molecular Medicine*, 77(7):527-543.

10. Ferec A. 2014. Genetics for trainers: Decoding the sports Genes. Kindle Edition, Arnaud Ferec, 152 p.

11. Gavin T.P., Robinson C.B., Yeager R.C., England J.A., Nifong L.W., Hickner R.C. 2004. Angiogenic growth factor response to acute systemic exercise in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 96(1):19-24.

12. Gilligan D.M., Panza J.A., Kilcoyne C.M., Waclawiw M.A., Casino P.R., Quyyumi A.A. 1994. Contribution of endothelium-derived nitric oxide to exercise-induced vasodilation. *Circulation*, 90(6):2853-2858.

13. Gustafsson T., Rundqvist H., Norrbom J., Rullman E., Jansson E., Sundberg C.J. 2007. The influence of physical training on the angiopoietin and VEGF-A systems in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 103(3):1012-1020.

14. He Z., Hu Y., Feng L., Lu Y., Liu G., Xi Y., Wen L., Xu X., Xu K. 2006. Polymorphisms in the HBB gene relate to individual cardiorespiratory adaptation in response to endurance training. *British Journal of Sports Medicine*, 40(12):998-1002.

15. Hyndman M.E., Parsons H.G., Verma S., Bridge P.J., Edworthy S., Jones C., Lonn E., Charbonneau F., Anderson T.J. 2002. The T-786→ C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension. *Hypertension*, 39(4):919-922.

16. Kraus R.M., Stallings III H.W., Yeager R.C., Gavin T.P. 2004. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *Journal of Applied Physiology*, 96(4):1445-1450.

17. Kumagai H., Tobina T., Ichinoseki-Sekine N., Kakigi R., Tsuzuki T., Zempo H., Shiose K., Yoshimura E., Kumahara H., Ayabe M., Higaki Y., Yamada R., Kobayashi H., Kiyonaga A., Naito H., Tanaka H., Fuku N. 2018. Role of selected polymorphisms in determining muscle fiber composition in Japanese men and women. *Journal of Applied Physiology*, 24(5):1377-1384.

18. Lloyd P.G., Prior B.M., Li H., Yang H.T., Terjung R.L. VEGF receptor antagonism blocks arteriogenesis, but only partially inhibits angiogenesis, in skeletal muscle of exercise-trained rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 288(2): H759-H68.

19. Lippi G., Longo U.G., Maffulli N. 2010. Genetics and sports. *British Medical Bulletin*, 93(1):27-47.

20. Longmore G.D. 1993. Erythropoietin receptor mutations and Olympic glory. *Nature Genetics*, 4(2):108-110.

21. Lundby C., Calbet J.A, Robach P. 2009. The response of human skeletal muscle tissue to hypoxia. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(22):3615-3623.

22. MacArthur D.G., North K.N. 2005 Genes and human elite athletic performance. *Human Genetics*, 5(16): 9-31.

23. MacArthur D.G., Seto J.T., Chan S., Quinlan K.G., Raftery J.M., Turner N., et al. 2008. An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between α-actinin-3 deficiency and human athletic performance. *Human Molecular Genetics*,17(8):1076-1086.

24. Mosleh M., Aljeesh Y.I., Dalal K. 2016. Burden of chronic disease in the Palestinian healthcare sector using Disability-Adjusted Life Years (DALY), Palestine. *Diversity and Equality in Health and Care*,13(3):261-268.

25. Mason S.D., Rundqvist H., Papandreou I., Duh R., McNulty W.J., Howlett R.A. 2007. HIF-1α in endurance training: suppression of oxidative metabolism. American J*ournal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293(5):R2059-R2069.

26. Myerson S., Hemingway H., Budget R., Martin J., Humphries S., Montgomery H. 1999. Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *Journal of Applied Physiology*, 87(4):6-13.

27. Niemi A.K., Majamaa K. 2005. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. *European Journal of Human Genetics*, 13(8):965-969.

28. Nourshahi M., Taheri Chaldorani H., Ranjbar K. 2013. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. *Quarterly of the Horizon of Medical Sciences*, 18(5):286-296. (In Persian)

29. Ohashi Y., Kawashima S., Hirata K., Yamashita T., Ishida T., Inoue N., Sakoda T., Kurihara H., Yazaki Y., Yokoyama M. 1998 Hypotension and reduced nitric oxide-elicited vasorelaxation in transgenic mice overexpressing endothelial nitric oxide synthase. *The Journal of Clinical Investigation*, 102(12):2061-2071.

30. Pescatello L.S. 2011. Exercise genomics: Molecular and Translational Medicine. Humana Press, pp:1-22.

31. Pollock M.L., Foster C., Schmidt D., Hellman C., Linnerud A., Ward A. 1982.

Comparative analysis of physiologic responses to three different maximal graded exercise test protocols in healthy women. *American Heart Journal*, 103(3):363-373.

32. Prior S.J., Hagberg J.M., Paton C.M., Douglass L.W., Brown M.D., McLenithan J.C., Roth S.M. 2006. DNA sequence variation in the promoter region of the VEGF gene impacts VEGF gene expression and maximal oxygen consumption. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 290(5): H1848-H55.

33. Richardson R., Wagner H., Mudaliar S., Henry R., Noyszewski E., Wagner P. 1999. Human VEGF gene expression in skeletal muscle: effect of acute normoxic and hypoxic exercise. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 277(6): H2247-H2252.

34. Saunders C.J., Xenophontos S.L., Cariolou M.A., Anastassiades L.C., Noakes T.D., Collins M. 2006. The bradykinin β2 receptor (BDKRB2) and endothelial nitric oxide synthase 3 (NOS3) genes and endurance performance during Ironman Triathlons. *Human Molecular Genetics*, 15(6):979-987.

35. Sebastiani P., Zhao Z., Abad-Grau M.M., Riva A., Hartley S.W., Sedgewick A.E., Doria A., Montano M., Melista E., Terry D., Perls T.T., Steinberg M.H., Baldwin C.T. 2008. A hierarchical and modular approach to the discovery of robust associations in genome-wide association studies from pooled DNA samples. *BMC Genetics*, 9(1):1-14.

36. Shalaby A., Lewis K., Bush K., Meredith P., Di Simplicio S., Lockwood A. 2016. Licence to save: a UK survey of anti-VEGF use for the eye in 2015. *Eye*, 30(11):1404-1406.

37. Shesely E.G., Maeda N., Kim H.S., Desai K.M., Krege J.H., Laubach V.E., Sherman PA, Sessa WC, Smithies O. 1996. Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(23):13176-13181.

38. Sori R., Ravasi A. A., Azarmohammadi R., Ranjbar K., Pournemati P. 2020. Effects of 12 weeks concurrent aerobic and resistance training on serum vaspin and C-reactive protein levels in obese middle-aged men. *Kumesh*, 22(2): 365-371.

39. Van Guilder G.P., Pretorius M., Luther J.M., Byrd J.B., Hill K., Gainer J.V., Brown N.J. 2008. Bradykinin type 2 receptor BE1 genotype influences bradykinin-dependent vasodilation during angiotensin-converting enzyme inhibition. *Hypertension*, 51(2): 454-549.

40. Williams A.G., Dhamrait S.S., Wootton P.T., Day S.H., Hawe E., Payne J.R, Myerson S.G., World M., Budgett R., Humphries S.E., Montgomery H.E. 2004. Bradykinin receptor gene variant and human physical performance. *Journal of Applied Physiology*, 96(3):938-942.

41. Woods D.R., Humphries S.E., Montgomery H.E. 2000. The ACE I/D polymorphism and human physical performance. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 11(10):416-420.

42. Yasujima M., Tsutaya S., Shoji M. 1998. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and hypertension. Rinsho byori *The Japanese Journal of Clinical Pathology*, 46(12):1199-1204.

43. Zanchi A., Moczulski D.K., Hanna L.S., Wantman M., Warram J.H., Krolewski A.S. 2000. Risk of advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes is associated with endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Kidney International*, 57(2): 405-413.

44. Zhang W.L., Sun K., Wang Y., Hu F.B., Hui R.T. 2007. Interaction of the Ile297 variant of vascular endothelial growth factor receptor-2 gene and homocysteine on the risk of stroke recurrence. *American Heart Association*, 16(16): 521-530.

45. Zhou D., Hu Y., Liu G., Gong L., Xi Y., Wen L. 2006. Muscle-specific creatine kinase gene polymorphism and running economy responses to an 18-week 5000-m training programme. *British Journal of Sports Medicine*, 40(12): 91-98.

The Effect of Eight Weeks of Aerobic Exercise on AT and TT Genotypes, rs1870377 Polymorphism of VEGFR Gene and Changes in Aerobic Performance of Untrained Women

Hadis Rahimi[1], Mania Roozbayani[1*], Abbas Saremi[2]

1- Department of Physical Education, Islamic Azad University, Borujerd Branch, Boroujerd, Iran
2- Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Arak University, Arak, Iran

Abstract

The present study was conducted with the aim of investigating the effect of eight weeks of aerobic training on the AT and TT genotypes of the VEGFR gene polymorphism rs1870377 and the changes in aerobic performance of untrained women. For this purpose, 29 inactive women aged 30 to 45 were randomly selected from volunteer women in Shahriar, Tehran Province. The Subjects did 8 weeks of aerobic training in 5 sessions per week and each session lasted 30 minutes with an intensity of 55 to 75% of reserve heart rate. In the first two weeks, they trained with 55-65% of the maximum heart rate, and in the second two weeks with 60-65% of the maximum heart rate, and in the last 4 weeks with 65-75% of the maximum heart rate. 10 minutes for warming up and 10 minutes for cooling down were considered in each training session. Bruce's seven-step test was used to determine the VO2max before and after the exercises. The test started with a slope equal to 10% and a speed of 2.7 km/min on the treadmill, and each stage was completed in three minutes, so that in the seventh stage, the slope was 22% and the speed was 9.6. Then, among the subjects who were able to perform the desired test based on the researcher's expectation, saliva sampling was done for DNA sequencing to determine the genotypes. The RFLP method was used to determine the gene genotype. Enzymatic digestion at 65 degrees Celsius overnight, including one microliter of enzyme, 3 microliters of PCR product, 2 microliters of special buffer and 15 microliters of deionized water was used. The results of data analysis were analyzed using the dependent t test. The results showed that VO2max in women with AT genotype was not significant before and after exercise intervention (p = 0.840). The amount of VO2max in women with AT genotype was not significant on average before and after exercise intervention (p = 0.633). Also, the amount of VO2max in women with AT genotype, after exercise intervention, was not significant compared to TT genotype. In this research, it was shown that the significant improvement of Vo2max did not depend on their genotypic differences, and between AT and TT genotypes, the rs1870377 polymorphism of the VEGFR gene and the changes in aerobic performance of obese untrained women after eight weeks of aerobic training no significant relationship was observed.

Keywords: AT Genotypes, TT Genotypes, VEGFR, Aerobic Exercise, Obesity, VO2max.