



Examining Adaptation In The Response Of Stimulatory And Inhibitory Genes Of Angiogenesis After Resistance Exercise Intervention In Older Adults' Men

Sajad Karami ¹ | Hamid Rajabi ^{2*} | Fereshteh Shahidi ³ | Fereshteh Golab ⁴

1. Department of Physical Education and sport Science, Teacher Training Shahid Rajaee University of Tehran, Tehran, Iran.
2. Professor, Department of Physical Education and sport science, Kharazmi University of Tehran, Tehran, Iran.
3. Department of Physical Education and sport Science, Teacher Training Shahid Rajaee University of Tehran, Tehran, Iran.
4. Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Tehran, Iran.

corresponding author: Sajad Karami, Karami.sp@gmail.com



CrossMark

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 2024/03/31
Revised: 2024/05/25
Accepted: 2024/05/25

Keywords:
Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha, Vascular Endothelial Growth Factor A, Chemokine CXCL12, Tumor Necrosis Factor Ligand, Resistance Training, Elderly Men

How to Cite:
Sajad Karami, Hamid Rajabi, Fereshteh Shahidi, Fereshteh Golab. **Examining Adaptation In The Response Of Stimulatory And Inhibitory Genes Of Angiogenesis After Resistance Exercise Intervention In Older Adults' Men.** *Research In Sport Medicine and Technology*, 2025; 23(29): 199-219.

ABSTRACT

Introduction and purpose: Age-related changes in the expression of angiogenesis-stimulating and inhibitory genes are characteristics of aging and endothelial dysfunction. Aerobic exercise can stop or reduce this disorder. Considering the importance of resistance training in the rehabilitation of the elderly, the aim of this study was to investigate the compatibility of the response of the stimulating and inhibiting factors of angiogenesis after resistance exercise intervention in the elderly. **Methodology:** 24 elderly men with an average age of 67.75 years were selected in an accessible and purposeful manner. Blood samples were taken before and after a resistance activity session before and after 8 weeks of resistance training. Real Time PCR method was used to express HIF-1, VEGF, SDF-1 and VEGI genes in blood tissue. The difference in the values of the variables was evaluated by the method of analysis of variance with repeated measurement of mixed design at the level of $P \leq 0.05$ using SPSS software version 25. **Findings:** HIF-1, VEGF and SDF-1 gene expression levels of the training group increased in the stages of the primary post-test (after one session), secondary pre-test and secondary post-test (after 8 weeks of training) and VEGI had no gene expression. **Discussion and conclusion:** It can be cautiously said that although one session of resistance training leads to gene expression of angiogenesis factors, long-term resistance training with sufficient intensity and volume can It activates the rate of angiogenesis in a much wider range and should be considered as a supplement to aerobic exercises in old age.



Published by Kharazmi University, Tehran, Iran. Copyright(c) The author(s) This is an open access article under e: CC BY-NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)



پژوهش در طب ورزشی و فناوری

شاپا چاپی: ۲۲۵۲-۰۷۰۸ شاپا الکترونیکی: ۲۵۸۸-۳۹۲۵

Homepage: <https://jsmt.khu.ac.ir>



بررسی سازگاری در پاسخ ژن‌های تحرکی و مهارت رگ‌زایی پس از مداخله ورزش مقاومتی در

مردان سالمند

سجاد کرمی^۱ | حمید رجبی^{۲*} | فرشته شهیدی^۳ | فرشته گلاب^۴

۱. دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.
۲. استاد دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران.
۳. دانشیار دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.
۴. استادیار مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

نویسنده مسئول: سجاد کرمی Karami.sp@gmail.com

اطلاعات مقاله:

نوع مقاله: علمی-پژوهشی

دریافت: ۱۴۰۳/۱/۱۲

ویرایش: ۱۴۰۳/۳/۵

پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۵

واژه‌های کلیدی:

عامل القای هیپوکسی ۱ آلفا، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، کموکاین CXCL12، لیگاند فاکتور نکروز تومور، تمرین مقاومتی، مردان سالمند

ارجاع:

سجاد کرمی، حمید رجبی، فرشته شهیدی، فرشته گلاب. بررسی سازگاری در پاسخ ژنهای تحرکی و مهارت رگ‌زایی پس از مداخله ورزش مقاومتی در مردان سالمند. پژوهش در طب ورزشی و فناوری. ۱۴۰۴: ۲۳(۲۹): ۱۹۹-۲۱۹

چکیده

مقدمه و هدف: تغییر وابسته به سن در بیان ژن‌های تحرکی و مهارت رگ‌زایی از مشخصه‌های سالمندی و اختلال در عملکرد اندوتلیال است. ورزش هوازی می‌تواند موجب توقف و یا کاهش این اختلال شود. باتوجه به اهمیت تمرین مقاومتی در توانبخشی سالمندان، هدف از این مطالعه، بررسی سازگاری در پاسخ عوامل تحرکی و مهارت رگ‌زایی پس از مداخله ورزش مقاومتی در سالمندان بود.

روش: ۲۴ مرد سالمند با میانگین سنی ۶۷/۷۵ سال به صورت در دسترس و هدفمند انتخاب شدند. نمونه خون قبل و بعد از یک جلسه فعالیت مقاومتی در قبل و بعد از ۸ هفته تمرین مقاومتی گرفته شد. روش Real Time PCR به جهت بیان ژن، HIF-1، VEGF، SDF-1 و VEGI بافت خون مورد استفاده قرار گرفت. تفاوت مقادیر متغیرها با روش تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر میکس دیزاین در سطح $P \leq 0.05$ با استفاده از نسخه ۲۵ نرم افزار SPSS ارزیابی شد.

یافته‌ها: مقادیر بیان ژن HIF-1، VEGF، SDF-1 گروه تمرین در مراحل پس‌آزمون اولیه (بعد از یک جلسه)، پیش‌آزمون ثانویه و پس‌آزمون ثانویه (بعد از ۸ هفته تمرین) افزایش داشت و VEGI هیچگونه بیان ژنی نداشت.

نتیجه‌گیری نهایی: بااحتیاط می‌توان گفت اگر چه انجام یک جلسه تمرین مقاومتی هم منجر به بیان ژن عوامل رگ‌زایی می‌شود، بااین حال تمرین مقاومتی بلند مدتی که از شدت و حجم کافی برخوردار باشد می‌تواند میزان فرایند رگ‌زایی را به مراتب در طیف گسترده‌تری فعال کند و به‌عنوان مکمل تمرینات هوازی در سالمندی مورد توجه قرار گیرد.

Extended Abstract

Changes in lifestyle and decreased physical activity in old age lead to many physiological and biokinetic changes. One of the most important of these changes is the decrease in cardiovascular system function, endothelial dysfunction, and angiogenesis (1). Therefore, endothelial dysfunction and decreased angiogenesis precede the development of other cardiovascular diseases associated with aging and senility (2,3). It has been shown that regular exercise in the elderly can, as a non-pharmacological intervention, lead to the return of many lost physiological abilities and, in particular, an increase in endothelial activity and angiogenesis (4). In this regard, it has been shown that angiogenesis begins with the proliferation and migration of endothelial progenitor cells (EPCs) in two forms: sprouting and bifurcation of existing capillaries (4). According to studies, the most important stimulatory factors involved in the angiogenesis process include: hypoxia-inducible factor-1 (HIF), vascular endothelial growth factor (VEGF), stromal cell-derived factor-1 (SDF) (4,5) which are secreted from endothelial cells in response to stimuli such as hypoxia, ischemia and shear stress, growth and stress hormones and inflammation. On the other hand, one of the important factors in inhibiting angiogenesis is vascular endothelial growth inhibitory factor (VEGI), this factor is known as a member of the tumor necrosis factor family and it seems that VEGI is generally expressed at a low level in tissues and little information is available about it (6). Compared to aerobic exercise, there is little information regarding resistance exercise in the context of examining the response and adaptation of angiogenic stimulatory or inhibitory genes. Therefore, it has been shown that the stress imposed on the vascular system in response to a session of resistance exercise leads to a greater ischemic stimulus than to a session of aerobic exercise (7). It has been shown that a session of resistance exercise can affect the angiogenic process, possibly due to the creation of muscle tension, shear stress, local hypoxia and ischemia, increased growth and stress hormones, microcellular damage, inflammation, and Ca²⁺ signaling (14). Regarding the adaptation of angiogenic factors to resistance training, studies have shown that changes in these factors vary following resistance training and depend on factors such as intensity and duration of training. It has also been shown that resistance training may increase HIF-1 gene and protein expression levels by activating the mTOR signaling pathway (16). Therefore, according to the study background, there is still no clear information available regarding the response and adaptation of angiogenesis-related factors to resistance exercise. Therefore, in the present study, our hypothesis is based on the fact that following an eight-week resistance training intervention in elderly individuals, the acquired adaptations can modulate the stresses introduced into the vascular system following a session of resistance exercise that can inherently lead to hemodynamic fluctuations, especially shear stress, ischemic conditions, hypoxia, and recording changes in the gene expression of angiogenesis-stimulating and -inhibitory cytokines, especially HIF-1, VEGF, SDF-1, and VEGI, and therefore have an effect on

the angiogenesis process in a different way than other types of exercise. Therefore, the present study aimed to investigate the consistency in the response of gene expression of angiogenesis-stimulating (HIF-1, VEGF, SDF-1) and inhibitory (VEGI) factors after resistance exercise intervention in the elderly.

Methodology

The statistical population of the present study included 100 elderly men over 65 years of age present at the daily care facility of Kahrizak Charity Hospital in Alborz Province. According to the definition of the World Health Organization, an elderly person is someone who has passed the age of sixty (22, 23), and the subjects of the present study were people with an age range of 65-75 years. The statistical sample of the study was 24 people who were selected from the aforementioned community in an accessible and purposeful manner and were randomly assigned to two equal groups in terms of experimental (n=12) and control (n=12) numbers. Before implementing the study process, the protocol of the present study was approved at the Sports Sciences Research Institute based on the ethical standards of the Ministry of Science under the number IR.SSRI.REC.1397.219 (43453). The inclusion criteria for the study were no history of orthopedic surgery in the past 5 years, no cardiovascular, pulmonary, or diabetes diseases, no history of falling in the past year, ability to walk independently, no regular exercise program, and no history of taking any specific medications or sports supplements (1). After 12 hours of overnight fasting, a "pre-test" blood sample of 5 ml of venous blood was taken from the vein of the non-dominant arm of the subjects. After 2 hours, the subjects of both groups performed 1 session of resistance exercise (24) including 6 movements of chest press, calf press, squat, leg press, leg curl and underarm pull-up in 3 rounds at an intensity equal to 70% of one repetition of the previous exercise for 30 minutes using a device. Immediately, a "post-test" blood sample of 5 ml was taken. The intensity of the resistance exercise instruction for each subject was 70% of the maximum maximum strength (25). After 48 hours, the 8-week resistance training program (26) (front of arm, back of arm, front of thigh, back of leg, chest, shoulder, and abdomen) was performed by the training group 3 times a week for 8 weeks. In the first 2 weeks, each exercise from the program was performed in 4 rounds, 10 repetitions, and an intensity of 50%-45% of one repetition maximum with 60-second rest periods between each round and 180-second rest periods between each exercise for 25 minutes. In order to comply with the principle of overload, 5% of one repetition maximum was added to the training intensity at the end of every two weeks. After eight weeks and exactly 48 hours after the last training session, a "secondary pre-test" blood sample was taken. After that, the subjects of both groups performed a resistance exercise session as instructed and immediately a "secondary post-test" sample was taken from both groups. Real Time PCR was used to measure the gene expression of HIF-1, VEGF, SDF-1 and VEGI in blood tissue. The difference in the

values of the variables was evaluated by the analysis of variance with repeated measures mixed design at the $P \leq 0.05$ level using SPSS version 25 software. The gene expression values of HIF-1, VEGF and SDF-1 in the training group increased in the initial post-test (after one session), secondary pre-test and secondary post-test (after 8 weeks), and VEGI had no gene expression.

Gene expression

After collecting blood samples in tubes containing anticoagulant, RNA extraction and then cDNA synthesis were performed. For this purpose, the RNA extraction kit (RNX) and cDNA synthesis kit manufactured by T Bioneer were used. After RNA extraction and synthesis, the cDNA PCR reaction was performed in a volume of 10 μL . First, the Master Mix2x primer and DEPC-treated water were brought to room temperature and after a centrifugation, they were ready for use. The strips (100 μL tubes connected together for the Real-Time PCR device) of the device were placed on ice under the hood and 5 μL (Master Mix 2x) and 3 μL DEPC-treated water and 0.5 μL of the primer were added to them. At this stage, the cDNA was thawed on ice and after a short centrifugation, 1 μL was added to each strip. Finally, the desired sample was placed in the PCR device (Corbett 6000) and 45 amplification cycles were performed. The resulting data was collected and recorded. In order to quantify the expression values of the desired gene, first the optical absorption coefficient data obtained in the Corbett device were converted into numerical data by the Rotor Gene 6000 series-Virtual Mode software designed by the German Corbett company. Then the formula $2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$ (2 to the negative power of $\Delta\Delta\text{ct}$) was used in Excel software. Then the expression levels of the genes were measured relatively compared to the control gene b-actin. In this formula, the necessary sizes were obtained through the following steps and placed in the formula and the fold change values were calculated. Also, the primers were designed by Sina Clone Company and the control gene b-actin was used as a control gene to normalize the reaction.

Finding

The findings of the present study showed that eight weeks of resistance training could lead to an increase in the expression of angiogenic cytokines, especially HIF-1, SDF-1 and VEGF, and in relation to the expression of the VEGI gene, although this gene had a basic expression, no increase or decrease was observed. Therefore, it can be cautiously stated that resistance training of sufficient intensity and volume, independent of its role in improving quality of life, increasing muscle mass, and reducing the risk of falling, can, as a supplement to aerobic training in old age, increase angiogenesis in the body, and thus provide benefits to health care providers in the field of preparation and treatment of cardiovascular diseases. In addition, our study suggests that important factors affecting the angiogenesis process at the gene and protein expression levels should be investigated using other training methods such as aerobic and combined training.

مقدمه

تغییر در سبک زندگی و کاهش فعالیت بدنی در سالمندی منجر به تغییرات فیزیولوژیک و زیست حرکتی بسیاری می شود. یکی از مهم ترین این تغییرات، کاهش عملکرد سیستم قلبی - عروقی، اختلال در عملکرد اندوتلیال و رگ زایی است (۱). بنابراین اختلال در اندوتلیال^۱ و کاهش فرآیند رگ زایی^۲ مقدم بر گسترش سایر بیماری های قلبی - عروقی همراه افزایش سن و سالمندی می باشد (۲،۳). مشخص شده است که انجام فعالیت منظم ورزشی در سالمندان می تواند به عنوان یک تداخل غیر دارویی منجر به برگشت بسیاری از توانایی های فیزیولوژیک از دست رفته و به طور خاص افزایش فعالیت اندوتلیال و رگ زایی شود (۴). در همین راستا مشخص شده است که با تکثیر و مهاجرت سلول های پیش ساز اندوتلیال^۳ (EPC) به دو شکل جوانه زدن و دو نیم شدن مویرگ های موجود، رگ زایی آغاز می شود (۴). بر اساس مطالعات، مهمترین فاکتورهای تحریکی درگیر در فرآیند رگ زایی شامل: عامل القاء هایپوکسی^۴ (HIF) عامل رشد اندوتلیال عروقی^۵ (VEGF)، عامل مشتق از سلول استرومایی^۶ (SDF) (۴،۵) می باشند که در پاسخ به محرک هایی مانند هایپوکسی، ایسکمی و تنش برشی، هورمون های رشدی و استرسی و التهاب از سلول های اندوتلیال ترشح می شوند. از سوی دیگر یکی از عوامل مهم در مهار رگ زایی، عامل مهار کننده رشد اندوتلیال عروقی^۷ (VEGI) است، این فاکتور به عنوان یک عضو از خانواده فاکتور نکروز دهنده تومور شناخته شده است و چنین به نظر می رسد که VEGI به طور کلی در بافت ها به میزان کم افزایش بیان دارد و اطلاعات کمی در ارتباط با آن در دسترس است (۶). در مقایسه با فعالیت ورزشی هوازی، اطلاعات کمی در ارتباط با فعالیت ورزشی مقاومتی در زمینه بررسی پاسخ و سازگاری ژن های تحریکی و یا مهار رگ زایی وجود دارد، از این رو مشخص شده است که استرس وارد شده به سیستم عروقی در پاسخ به یک جلسه فعالیت ورزشی مقاومتی منجر به محرک ایسکمیک بیشتری نسبت به یک جلسه فعالیت ورزشی هوازی می شود (۷). همچنین در نتیجه فعالیت مقاومتی عوامل بسیاری نظیر هورمون های رشدی دستخوش تغییرات می شوند و چنین به نظر می رسد که هورمون های رشدی از طریق اثرگذاری بر بیان ژن و سنتز پروتئین، اثرات خود را در فرایند رگ زایی اعمال می کنند (۴). در همین راستا مشخص شده است که محور GH-IGF-1 از طریق فعال سازی فسفاتیدیل اینوزیتول تری کیناز (IP3K) موجب افزایش محرک های هایپوکسی می شود و احتمالاً موجب افزایش بیان ژن عوامل درگیر در رگ زایی می شود (۸). گاوین و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که یک جلسه فعالیت مقاومتی می تواند عوامل رگ زایی عضله اسکلتی را افزایش دهد (۹). روس و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی اثر یک جلسه فعالیت ورزشی مقاومتی به این نتیجه رسیدند که جلسات شدید و کوتاه مدت فعالیت مقاومتی می تواند سایتوکاین های رگ زایی که منجر به انقباض و محافظت عروقی می شود را افزایش دهد، آن ها چنین بیان کردند که یک

1 . Endothelial

2 . Angiogenesis

3 . Endothelial Progenitor Cells

4 . Hypoxia Inducible Factors-1

5 . Vascular Endothelial Growth Factor

6 . stromal cell-derived factor-1

7 . Vascular Endothelial Growth Inhibitor

جلسه فعالیت ورزشی مقاومتی در صورت داشتن شدت کافی باعث کاهش فشار اکسیژن داخل سلولی و ایجاد هایپوکسی می‌شود و هایپوکسی نیز منجر به افزایش بیان $\text{HIF-1}\alpha$ و آغاز فرایند رگ‌زایی می‌شود (۱۰). اسکولز و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند پس از بروز آسیب سلول عضلانی ناشی از یک جلسه فعالیت ورزشی مقاومتی، بین افزایش IL-6 و VEGF همبستگی مثبتی وجود دارد و این افزایش به مدت و شدت فعالیت مقاومتی و توده‌ی عضلانی درگیر بستگی دارد (۱۱). همچنین افزایش Ca^{2+} بین سلولی در پاسخ به نیازهای انقباضی فعالیت ورزشی مقاومتی که ریشه در عملکرد انقباض عضلانی دارد، می‌تواند منجر به فعالسازی سیگنالینگ کالمودولین - کلسی نورین شود و افزایش بیان ژن $\text{PGC-1}\alpha$ و فعال سازی مسیر $\text{PGC-1}\alpha/\text{ERR-}\alpha$ و متعاقباً، افزایش VEGF را سبب شود (۱۲). مطالعه‌ای دیگر نشان داد که یک دوره ۳۰ دقیقه‌ای فعالیت ورزشی برای افزایش SDF-1 پلاسما و بروز بلافاصله اثرات پایین دست آن بر روی EPCs و عملکرد بیولوژیکی آنها کافی است (۱۳). بنابراین یک جلسه فعالیت مقاومتی احتمالاً به دلیل ایجاد کشش عضلانی، تنش برشی، هایپوکسی و ایسکمی موضعی، افزایش هورمون‌های رشدی و استرسی، آسیب ریز سلولی، التهاب و سیگنالینگ Ca^{2+} می‌تواند بر فرایند رگ‌زایی اثر گذار باشد (۱۴). در ارتباط با سازگاری عوامل رگ‌زایی به تمرین مقاومتی مطالعات نشان داده‌اند که تغییرات در این عوامل به دنبال تمرین مقاومتی متفاوت است و به عواملی نظیر شدت و مدت تمرین بستگی دارد. در بررسی شدت و مدت تمرین مقاومتی مشخص شده است که این مدل تمرین موجب افزایش و حفظ توده عضلانی به واسطه افزایش تولید برخی هورمون‌های آنابولیک به ویژه تستوسترون می‌شود (۱۴). در همین ارتباط چن و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که عقیم سازی موجب کاهش SDF-1 در ایسکمی قلبی می‌شود و بیان کردند که در مراحل اولیه انفارکتوس قلبی، کاهش تسترون در نتیجه عقیم سازی موجب کاهش فراخوانی EPC به واسطه کاهش SDF-1 می‌شود (۱۵). همچنین در نتیجه تمرینات مقاومتی یکی از مهمترین سازگاری‌های کسب شده هیپرتروفی و افزایش حجم عضلات می‌باشد و مشخص شده است که تمرینات مقاومتی به واسطه فعال سازی مسیر سیگنالی mTOR ممکن است سطوح بیان ژن و پروتئین HIF-1 را افزایش می‌دهد (۱۶، ۱۷). هولوی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که همزمان با تغییرات ساختاری و هیپرتروفی عضلات اسکلتی در نتیجه ۱۲ هفته تمرین مقاومتی، میزان پروتئین HIF-1 افزایش داشت (۱۸). از سوی دیگر اصفهانی و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که تمرین مقاومتی نمی‌تواند موجب تغییر در عوامل رگ‌زایی در موش‌ها شود (۱۹). شکرچی زاده و همکاران (۱۳۹۱) بیان کردند که تمرین مقاومتی بر سطوح پلاسمایی عوامل رگ‌زایی و گیرنده‌های آن در رت‌های نر سالم تأثیر معنی‌داری ندارد (۲۰). گایینی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که هشت هفته تمرین مقاومتی فزاینده در رت‌های دیابتی هیچگونه تأثیری معنی‌داری بر عوامل تحریکی رگ‌زایی نداشت (۲۱). بنابراین با توجه به تناقضات موجود در پیشینه مطالعاتی هنوز اطلاعات روشنی در رابطه با پاسخ و سازگاری عوامل مرتبط با رگ‌زایی نسبت به فعالیت ورزشی مقاومتی در دسترس نیست. از این رو در مطالعه حاضر فرض ما بر این موضوع استوار است که به دنبال مداخله هشت هفته تمرین مقاومتی در افراد سالمند، سازگاری‌های کسب شده می‌تواند تنش‌های وارد شده به سیستم عروقی را به دنبال یک جلسه فعالیت مقاومتی که ذاتاً می‌تواند منجر به نوسان‌های همودینامیکی مخصوصاً تنش برشی،

شرایط ایسکمی، هایپوکسی و ثبت تغییرات در بیان ژن سیتوکین‌های تحریکی و مهار آنتی‌اوپتوز به ویژه HIF-1، VEGF، SDF-1 و VEGF شود را تعدیل کند و از این رو در روند رگ‌زایی به گونه‌ای متفاوت از سایر انواع تمرینات ورزشی اثر گذار باشد. بنابراین با توجه به پیشینه مطالعات انجام گرفته که بیشتر به صورت حاد و با استفاده از پروتکل‌های ورزشی هوازی صورت گرفته از یک سو و تحقیقات محدود در افراد سالمند، مطالعه حاضر با هدف بررسی سازگاری در پاسخ بیان ژن عوامل تحریکی (HIF-1، VEGF، SDF-1) و مهار (VEGF) رگ‌زایی پس از مداخله ورزش مقاومتی در سالمندان انجام گرفت.

روش‌شناسی

جامعه آماری مطالعه حاضر شامل مردان سالمند بالای ۶۵ سال حاضر در محل مراقبت‌های روزانه آسایشگاه خیریه کهریزک استان البرز به تعداد ۱۰۰ نفر بود. بر اساس تعریف سازمان بهداشت جهانی کسی که سن شصت سالگی را پشت سر گذاشته باشد، سالمند است (۲۲، ۲۳)، همچنین آزمودنی‌های مطالعه حاضر را افراد با دامنه سنی ۷۵ - ۶۵ سال تشکیل دادند. نمونه آماری مطالعه ۲۴ نفر بودند که به صورت در دسترس و هدفمند از میان جامعه مذکور انتخاب شدند و بطور تصادفی در دو گروه برابر از نظر تعداد تجربی ($n=12$) و کنترل ($n=12$) قرار گرفتند. قبل از اجرای روند مطالعه، پروتکل مطالعه حاضر در پژوهشگاه علوم ورزشی بر اساس موازین اخلاقی وزرات علوم به شماره IR.SSRI.REC.1397.219 (۴۳۴۵۳) به تصویب رسید. سپس به منظور انتخاب سالمندان از طریق ارائه معرفی نامه از دانشگاه و هماهنگی قبلی با مدیر آسایشگاه و همچنین رئیس بخش مراقبت‌های روزانه و ارائه گزارش از چگونگی انجام مطالعه در جلسه کمیته سلامت آسایشگاه موافقت ایشان مبنی بر انجام مطالعه و در اختیار گذاشتن امکانات و آزمودنی‌ها جلب گردید، سپس با برگزاری یک جلسه، سالمندان از چگونگی انجام مطالعه آگاه شده و جهت اجرا گزینش شدند. در همین راستا با استناد به پرونده پزشکی و سلامت آزمودنی‌ها و همچنین پزشک حاضر در مرکز مراقبت‌های روزانه، سالمندان کاملاً سالم که فقط از نظر فیزیولوژیکی سالمند بودند، معیارهای ورود به مطالعه نداشتن سابقه ارتوپدی در ۵ سال گذشته، نداشتن مشکل بینایی، عدم بیماری‌های قلبی، عروقی، ریوی، دیابت، سابقه افتادن در یک سال گذشته، استفاده نکردن از عصا یا واکر، توانایی در راه رفتن مستقل، نداشتن برنامه تمرینی ورزشی منظم، عدم سابقه هرگونه مصرف داروی خاص و مکمل ورزشی در نظر گرفته شد (۱). از آزمودنی‌های مطالعه خواسته شد که در ۲۴ ساعت قبل آغاز روند مطالعه از انجام هر گونه فعالیت ورزشی و مصرف غذای چرب و پر نمک پرهیز کنند. همچنین سابقه ابتلا به بیماری‌های حاد و مزمن جسمی، شناختی، روانی که مانع از انجام ورزش می‌شود، شرکت در فعالیت‌های ورزشی دیگر که مشابه فعالیت ورزشی مورد مطالعه بود، داشتن مشکلاتی که به منع انجام ورزش منجر می‌شود، داشتن عیوب شنوایی و بینایی و همچنین داشتن مشکلات تعادلی به عنوان معیارهای خروج از مطالعه در نظر گرفته شد (۲۳). در مطالعه حاضر محققین و شرکت کنندگان در خصوص گروه‌ها کورسازی نشده بودند و فقط در

سطح تجزیه و تحلیل آماری کورسازی صورت گرفت، به این ترتیب که کارشناس آمار نسبت به گروه‌های آزمایش آگاه نبود.

نمونه‌گیری خون و پروتکل تمرینی

پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه، نمونه خون "پیش آزمون اولیه" به حجم ۵ میلی‌لیتر خون سیاهرگی در درون لوله محتوی EDTA در دمای ۲۴ - ۱۸ درجه سانتیگراد از ورید دست غیر برتر آزمودنی‌ها، گرفته شد و پس از ۲ ساعت آزمودنی‌های هر دو گروه دستورالعمل ۱ جلسه فعالیت مقاومتی (۲۴) شامل ۶ حرکت پرس سینه، پشت ساق، اسکوات، پشت پا، جلو پا و سیم‌کش زیر بغل را در ۳ دور و با شدت برابر ۷۰٪ یک تکرار پیشینه در مدت زمان ۳۰ دقیقه و با استفاده از دستگاه انجام دادند و بلافاصله نمونه خونی "پس آزمون اولیه" به حجم ۵ میلی‌لیتر گرفته شد. شدت دستورالعمل ۱ جلسه فعالیت مقاومتی برای هر آزمودنی ۷۰٪ حداکثر قدرت پیشینه (۲۵) بود. پس از گذشت ۴۸ ساعت، دستورالعمل ۸ هفته تمرین مقاومتی (۲۶) (جلو بازو، پشت بازو، جلو ران، پشت پا، قفسه سینه، سرشانه و شکم) توسط گروه تمرین به صورت ۳ جلسه در هفته و به مدت هشت هفته در مجموع ۲۴ جلسه، دستورالعمل تمرین مقاومتی به اجرا درآمد. در دو هفته ابتدایی هر حرکت از دستورالعمل ذکر شده در ۴ دور، ۱۰ تکرار و شدت برابر ۵۰٪ - ۴۵٪ یک تکرار پیشینه همراه با وهله‌های استراحتی ۶۰ ثانیه‌ای در بین هر دور و وهله‌های استراحتی ۱۸۰ ثانیه‌ای در بین هر حرکت در مدت زمان ۲۵ دقیقه انجام گرفت. ضرب آهنگ تکرارها به وسیله مترونوم تنظیم گردید به نحوی که هر حرکت به مدت ۱ ثانیه (یک ثانیه درونگرا و یک ثانیه برونگرا) طول می کشید. به منظور رعایت اصل اضافه بار در پایان هر دو هفته، ۵٪ یک تکرار پیشینه به شدت تمرین اضافه گردید. در طول مدت این هشت هفته، آزمودنی‌های گروه کنترل از شرکت در فعالیت‌های ورزشی به جهت مداخله بر نتایج مطالعه منع شدند و پس از هشت هفته و دقیقاً ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه خون "پیش آزمون ثانویه" گرفته شد. پس از آن آزمودنی‌های هر دو گروه دستورالعمل یک جلسه فعالیت مقاومتی را انجام دادند و بلافاصله نمونه "پس آزمون ثانویه" از هر دو گروه گرفته شد. شدت دستورالعمل یک جلسه فعالیت مقاومتی که پس از هشت هفته تمرین مقاومتی انجام گرفت، بر اساس یک تکرار پیشینه جدید که از قبل محاسبه شده بود، تعدیل گردید. نمونه‌های خونی جهت انجام مراحل آزمایشگاهی به منظور بررسی میزان بیان ژن SDF-1، VEGF، HIF-1 و VEGI بافت خون به مرکز تحقیقات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران منتقل گردید.

ملاحظات پروتکل تمرینی

در روند اجرای پروتکل‌های تمرینی مورد استفاده در مطالعه حاضر باتوجه به توصیه‌های ویژه کالج آمریکایی طب ورزش (ACSM) برای افراد سالمند (۲۷) و همچنین تاییدیه کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی از ورود سالمندان دارای بیماری‌های مزمن جلوگیری به عمل آمد. همچنین از آزمودنی‌ها در این مطالعه "تست استرس ورزشی" گرفته شد. معیار توقف تست استرس ورزشی شامل: واماندگی ارادی، ناهنجاری معنی‌دار در ECG (افت قطعه ST

بیش از ۲ میلیمتر، یا پاسخ غیر طبیعی فشار خون) و بالا بودن میزان درک فشار (آزمون شفاهی بورگ، مقیاس ۱۰ واحدی) بود و با توجه به نتایج منفی (طبیعی)، تست استرس ورزش که حاکی از عدم هیچگونه تغییر الکتروکاردیوگرافیک مربوط به بیماری‌های ایسکمیک قلب بود، لذا آزمودنی‌های این مطالعه مجوز شرکت و انجام پروتکل ورزشی مورد استفاده در این مطالعه را کسب کردند. علاوه بر این به منظور اجتناب از مانور والسالوا (حبس نفس هنگام برداشتن وزنه) الگوهای تنفسی هنگام تمرین مقاومتی به تمام آزمودنی‌ها آموزش داده شد. به هر حال برای اطمینان از اینکه برنامه تمرینی، قابلیت اجرایی دارد، این برنامه در یک گروه کوچک اجرا شد و مشکلی مشاهده نشد. همچنین در طول مدت مطالعه از آزمودنی‌های گروه کنترل خواسته شد که در فعالیت‌های ورزشی شرکت نداشته باشند و به جهت رعایت حقوق سالمندان پس از انجام مطالعه، آزمودنی‌های گروه کنترل نیز پروتکل تمرینی مشابه‌ای تحت نظر مربی ورزش بخش مراقبت‌های روزانه را به انجام رساندند.

جدول ۱. جزئیات پروتکل هشت هفته‌ای تمرین مقاومتی مورد استفاده در مطالعه

پروتکل تمرین (هفته اول)					
حرکت	دور	تکرار	۱ تکرار بیشینه %	استراحت بین هر ست (ثانیه)	استراحت بین هر حرکت (ثانیه)
جلو بازو	۴	۱۰	۴۵-۵۰	۶۰	۱۲۰
پشت بازو	۴	۱۰	۴۵-۵۰	۶۰	۱۲۰
جلو ران	۴	۱۰	۴۵-۵۰	۶۰	۱۲۰
پشت پا	۴	۱۰	۴۵-۵۰	۶۰	۱۲۰
قفسه سینه	۴	۱۰	۴۵-۵۰	۶۰	۱۲۰
سرشانه	۴	۱۰	۴۵-۵۰	۶۰	۱۲۰
شکم	۴	۱۰	۴۵-۵۰	۶۰	۱۲۰
شدت و زمان تمرین مقاومتی در هر هفته					
هفته		% یک تکرار بیشینه		زمان کل تمرین (دقیقه)	
هفته اول - دوم		۴۵-۵۰		۴۰	
هفته سوم - چهارم		۵۰-۵۵		۴۰	
هفته پنجم - ششم		۵۵-۶۰		۴۰	
هفته هفتم - هشتم		۶۰-۶۵		۴۰	
میانگین حجم پروتکل ۸ هفته تمرین مقاومتی در هفته اول و هفته هشتم (کیلوگرم)					
حرکت	دور	تکرار	هفته اول (کیلوگرم)	هفته هشتم (کیلوگرم)	
جلو بازو	۴	۱۰	۱۰۱/۸۰±۵/۵۶	۱۴۷/۶۵±۳/۷۸	
پشت بازو	۴	۱۰	۱۱۲/۳۶±۵/۱۶	۱۵۶/۸۰±۴/۲۲	
جلو ران	۴	۱۰	۳۲۰/۵۵±۷/۸۴	۵۱۲/۲۱±۶/۳۳	
پشت پا	۴	۱۰	۱۱۷/۴۱±۵/۳۲	۱۸۴/۶۳±۲/۵۵	
قفسه سینه	۴	۱۰	۱۷۸/۲۲±۳/۸۶	۲۶۸/۱۵±۴/۳۵	

۲۰۸/۳۳±۳/۵۶	۱۲۸/۴۴±۴/۳۸	۱۰	۴	سرشانه
۷۴۸/۲۴±۷/۴۷	۴۸۰/۷۵±۶/۳۶	۱۰	۴	شکم
۲۲۲۶	۱۴۴۰	حجم پروتکل تمرین (کیلوگرم)		

بررسی بیان ژن

پس از جمع‌آوری نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد، استخراج RNA و سپس سنتز cDNA انجام گرفت و برای این منظور از کیت استخراج RNA (RNX) و کیت سنتز cDNA ساخت شرکت تی بیونیر (T Bioneer) استفاده شد. پس از استخراج RNA و سنتز، cDNA واکنش PCR در حجم ۱۰ μL انجام شد، ابتدا آغازگر Master Mix2x و DEPC-treated water به دمای محیط رسانده و بعد از یک سانتیفریوژ آماده استفاده شدند، استریپ‌های (تیوب‌های ۱۰۰ μL متصل به هم مخصوص دستگاه Real-Time PCR) دستگاه بر روی یخ در زیر هود قرار داده و به آن‌ها ۵ μL (Master Mix 2x) و ۳ μL DEPC-treated water و ۰٫۵ μL از آغازگر اضافه شد، در این مرحله cDNA روی یخ ذوب گردید و بعد از یک سانتیفریوژ کوتاه به هر استریپ ۱ μL اضافه گردید. در نهایت نمونه مورد نظر در دستگاه PCR (corbett 6000) قرار داده شد و ۴۵ چرخه تکثیر انجام پذیرفت. داده حاصل، جمع‌آوری و ثبت شد. جهت کمی‌سازی مقادیر بیان ژن مورد نظر، ابتدا داده‌های ضریب جذب نوری به دست آمده در دستگاه کوربت، توسط نرم‌افزار Rotor Gene 6000 series-Virtual Mode طراحی شده به وسیله شرکت کوربت آلمان به داده‌های عددی تبدیل شد. سپس از فرمول $2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$ (۲) به توان منفی $\Delta\Delta\text{ct}$ در نرم‌افزار Excel استفاده شد. سپس میزان بیان ژن‌ها به صورت نسبی در مقایسه با ژن کنترل b-actin اندازه گیری گردید. در این فرمول اندازه‌های لازم از طریق مراحل زیر به دست آمد و در فرمول قرار داده شد و مقادیر fold change محاسبه گردید. همچنین پرایمرها توسط شرکت سینا کلون طراحی شد و از ژن کنترل b-actin به عنوان ژن شاهد کنترل برای نرمالیزه کردن واکنش استفاده شد.

جدول ۲. توالی آغازگرها و سیکل دمایی

توالی پرایمر ژنهای بکار رفته در آزمایش Real-Time PCR			
Primer Name	Oligo sequences 5'→3' Sequence 5'→ 3' (10-50 bp)	Length	OD
HIF-1α-F	CTAGCCGAGGAAGAAGTATGAAC	23	2-4
HIF-1α-R	CACTGAGGTTGGTACTGTTGG	22	2-4
SDF-1α-F	TCACAATCATCATCTTCTCATTCTC	26	2-4
SDF-1α-R	GTAAAGCCACCACCTGACTG	20	2-4
VEGF-α-F	AAGGGGCAAAAACGAAAGCG	20	2-4
VEGF-α-R	GGAGGCTCCAGGGCATTAGA	20	2-4
VEGI-F	TTAGAGCAGACGGAGATAAGCC	22	2-4
VEGI-R	TTGGTATAGTTCATTCCGTTCTTGG	25	2-4
b-actin-F	CATGTACGTTGCTATCCAGGC	22	2-4
b-actin-R	CTCCTTAATGTCACGCACGAT	21	2-4
برنامه دستگاه ترموسایکلر جهت سنتز CT RT cDNA			
Step 1	150C 30 sec: primer annealing	Repeat 12 times or less	
Step 2	420C 4 min: cDNA synthesis		
Step 3	550C 30 sec: melting secondary structure & cDNA synthesis		
Heat Inactivation	950C 5 min		
برنامه آزمایش Real-Time PCR			
Temprature	Time	Step	
95°C	30 s	Initial Denaturation	
95°C	5s	Dentauration	
60°C	30s	Annealing and Extension	

روش آماری

جهت بررسی معنی داری تفاوت بین مقادیر متغیرهای مورد مطالعه در دو گروه کنترل و تمرین، از تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر مختلط دوطرفه استفاده شد. قبل از انجام این آزمون آماری، جهت رعایت پیش فرض ها، نتایج آزمون های M باکس، کرویت موجلی، لوین و کولموگروف - اسمیرنوف بررسی شد. سطح معنی داری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته و کلیه داده ها با استفاده از SPSS نسخه ۲۵ تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

نتایج آزمون t مستقل حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین ویژگی‌های آنترپومتریکی آزمودنی‌ها در دو گروه کنترل و تجربی در قبل از شروع مطالعه بود که این امر نشان‌دهنده همسان بودن هر چه بیشتر آزمودنی‌ها در هر دو گروه مورد مطالعه بود.

جدول ۳. ویژگی‌های آزمودنی‌ها در گروه‌های مورد مطالعه قبل از هشت هفته تمرین مقاومتی ($M \pm SD$)

مقدار p	تجربی	کنترل	گروه
---	۱۲	۱۲	تعداد
---	$66/42 \pm 3/7$	$69/83 \pm 2/4$	سن (سال)
---	$166/1 \pm 6/3$	$163/55 \pm 4/7$	قد (سانتی‌متر)
$0/112$	$66/07 \pm 2/40$	$67/80 \pm 3/80$	وزن (کیلوگرم)
$0/073$	$24/60 \pm 4/40$	$25/20 \pm 7/20$	شاخص توده بدن (کیلوگرم/مترمربع)
$0/092$	$19/90 \pm 8/20$	$19/60 \pm 5/30$	درصد چربی (درصد)
$0/848$	$52/04 \pm 3/70$	$51/30 \pm 6/20$	توده بدون چربی (کیلوگرم)
$0/523$	$86/50 \pm 3/30$	$87/40 \pm 8/40$	نسبت دور کمر به لگن
$0/079$	$45/20 \pm 5/60$	$47/70 \pm 6/40$	نسبت دور کمر به قد

بر اساس اطلاعات جدول ۳. نتایج نشان داد که روند تغییرات مقادیر بیان ژن HIF-1 در گروه تجربی در مرحله پیش‌آزمون ثانویه در مقایسه با پیش‌آزمون اولیه، افزایش ($P=0/036$) داشت. همچنین مقادیر بیان ژن HIF-1 بین مراحل پس‌آزمون ثانویه و پیش‌آزمون ثانویه نیز تفاوت معنی‌دار و در جهت کاهش بیان ژن HIF-1 ($P=0/023$) وجود داشت. در نهایت در مرحله پیش‌آزمون ثانویه بین گروه کنترل و تجربی تفاوت معنی‌دار ($P=0/000$) مشاهده شد، به این معنی که بیان ژن HIF-1 در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد.

تحلیل نتایج نشان داد که بیان ژن VEGF در گروه دو گروه در مرحله پس‌آزمون اولیه نسبت به مرحله پیش‌آزمون اولیه افزایش ($P=0/000$) داشته است. در گروه تجربی بیان ژن VEGF در مرحله پیش‌آزمون ثانویه نسبت به پیش‌آزمون اولیه افزایش ($P=0/041$) داشت. همچنین در مرحله پس‌آزمون ثانویه گروه تجربی افزایش معنی‌داری ($P=0/032$) را نسب به گروه کنترل نشان داد. علاوه بر این در گروه تجربی و کنترل بین پس‌آزمون ثانویه و پیش‌آزمون ثانویه تفاوت معنی‌داری ($P=0/000$) مشاهده شد و در مقایسه با پس‌آزمون اولیه، پس‌آزمون ثانویه در گروه کنترل ($P=0/041$) و تجربی ($P=0/000$) افزایش رخ داد. در نهایت بین مرحله پس‌آزمون ثانویه در دو گروه تجربی و کنترل نیز تفاوت معنی‌دار ($P=0/032$) مشاهده گردید.

همچنین تغییرات بیان ژن SDF-1 در گروه تجربی و کنترل در مرحله پس آزمون اولیه نسبت به مرحله پیش آزمون اولیه افزایش ($P=0/021$) داشت. در گروه تجربی بیان ژن SDF-1 در مرحله پیش آزمون ثانویه نسبت به پیش آزمون اولیه کاهش ($P=0/042$) یافت. همچنین در گروه تجربی بیان ژن SDF-1 در مرحله پیش آزمون ثانویه نسبت به مرحله پیش آزمون ثانویه گروه کنترل کاهش ($P=0/021$) داشته است. از سوی دیگر مقادیر بیان ژن SDF-1 در گروه تجربی بین مراحل پیش آزمون ثانویه و پس آزمون ثانویه افزایش ($P=0/000$) داشت. همچنین بین مرحله پس آزمون اولیه و پس آزمون ثانویه نیز تفاوت معنی دار ($P=0/042$) وجود داشت. در آخر بین دو گروه کنترل و تجربی در مرحله پس آزمون ثانویه تفاوت معنی دار ($P=0/021$) مشاهده شد.

در ارتباط با بیان ژن VEGF نتایج نشان داد که اگر چه این ژن بیان پایه داشت ولیکن بیان این ژن در بافت خون در سطح استراحت و پس از یک جلسه فعالیت مقاومتی در قبل و بعد از هشت هفته تمرین مقاومتی در افراد سالمند هر دو گروه بدون هیچ گونه افزایش یا کاهشی مشاهده نگردید.

جدول ۴. تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر میکس دیزاین (دو راهه) بیان ژن HIF-1، VEGF و SDF-1

متغیر	مرحله	گروه کنترل	گروه تمرین	گروه P	زمان P	P زمان × گروه
HIF-1	پیش آزمون اولیه	$1/36 \pm 0/65$	$0/90 \pm 0/46$	0/001	0/023	0/036
	پس آزمون اولیه	$1/12 \pm 0/46$	$1/33 \pm 0/41$			
	پیش آزمون ثانویه	$1/27 \pm 1/11$	$1/80 \pm 0/70 \dagger \#$			
	پس آزمون ثانویه	$1/90 \pm 1/19 \##$	$1/36 \pm 0/84 \##$			
$\dagger$ سطح معناداری $P \leq 0/05$ در مقایسه با پیش آزمون اولیه. # سطح معناداری $P \leq 0/05$ بین گروه کنترل و تجربی. ## سطح معنی داری $P \leq 0/001$ بین گروه کنترل و تجربی. ** سطح معناداری $P \leq 0/05$ بین پیش آزمون و پس آزمون (پس رونده).						
متغیر	مرحله	گروه کنترل	گروه تجربی	گروه P	زمان P	P زمان × گروه
VEGF	پیش آزمون اولیه	$1/27 \pm 0/88$	$1/15 \pm 0/84$	0/001	0/032	0/041
	پس آزمون اولیه	$5/73 \pm 1/86 \##$	$5/76 \pm 2/11 \##$			
	پیش آزمون ثانویه	$2/01 \pm 1/11$	$3/80 \pm 0/70 \dagger \#$			
	پس آزمون ثانویه	$7/44 \pm 3/19 \## \psi$	$9/45 \pm 3/69 \## \psi \psi$			
$\##$ سطح معنی داری $P \leq 0/001$ بین پیش آزمون و پس آزمون. # سطح معنی داری $P \leq 0/05$ بین گروه کنترل و تمرین. $\dagger$ سطح معنی داری $P \leq 0/05$ در مقایسه با پیش آزمون اولیه. ψ سطح معنی داری $P \leq 0/05$ در مقایسه با پس آزمون اولیه. $\psi \psi$ سطح معنی داری $P \leq 0/001$ در مقایسه با پس آزمون اولیه.						
متغیر	مرحله	گروه کنترل	گروه تجربی	گروه P	زمان P	P زمان × گروه
SDF-1	پیش آزمون اولیه	$1/06 \pm 0/57$	$1/03 \pm 0/55$	0/001	0/042	0/021
	پس آزمون اولیه	$1/58 \pm 0/59 \#$	$1/84 \pm 0/37 \#$			
	پیش آزمون ثانویه	$1/04 \pm 0/69$	$0/84 \pm 0/65 \dagger \#$			
	پس آزمون ثانویه	$1/11 \pm 1/34$	$2/55 \pm 0/95 \## \psi$			
$\#$ سطح معنی داری $P \leq 0/05$ بین پیش آزمون و پس آزمون. $\##$ سطح معنی داری $P \leq 0/001$ بین پیش آزمون و پس آزمون. $\dagger$ سطح معنی داری $P \leq 0/05$ در مقایسه با پس آزمون اولیه. ψ سطح معنی داری $P \leq 0/05$ در مقایسه با پیش آزمون اولیه. (پس رونده).						

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به افزایش در بیان ژن عوامل رگ‌زایی به‌ویژه HIF-1، VEGF و SDF-1 و همچنین عدم بیان ژن مهارکننده رگ‌زایی VEGI شد. در همین راستا مشخص شده است که فعالیت ورزشی حاد و مزمن هر یک به نحوی ایفای نقش می‌کنند. فعالیت ورزشی حاد به واسطه فعال‌سازی ژن HIF-1 و متعاقباً رونویسی از چندین ژن شامل SDF-1 و VEGF گیرنده‌های آن‌ها منجر به رگ‌زایی می‌شود. از سوی دیگر فعالیت ورزشی طولانی‌مدت از طریق افزایش محتوای پروتئینی HIF-1، SDF-1 و VEGF پلازما منجر به این فرایند می‌شود؛ بنابراین بیان ژن HIF-1 را می‌توان به‌عنوان اولین فاکتور در بالادست مسیر رگ‌زایی در نظر گرفت، چرا که HIF-1 می‌تواند سایر فاکتورهای اثرگذار مانند VEGF و SDF-1 را فعال کند. در تشریح نتایج مطالعه حاضر، مطالعات نشان داده‌اند که تمرین ورزشی به علت افزایش مصرف اکسیژن شرایط شبه هیپوکسی ایجاد می‌کند و عضلات دچار تنش اکسیژن می‌شوند (۲۸-۳۰). همچنین مشخص شده است که عوامل مختلفی در پاسخ به تمرین ورزشی به ویژه تمرین مقاومتی، می‌تواند محرک‌های رگ‌زایی را دستخوش تغییرات کند، که از مهم‌ترین آنها می‌توان به هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، کشش و انقباض عضلانی اشاره کرد. در واقع تمرین مقاومتی به واسطه ایجاد فشار انقباض عضلات بر عروق منجر به هیپوکسی موضعی و سیستمیک، تنش برشی، اسیدوز، استرس اکسیداتیو، تغییرات هورمونی و گرما می‌شود و همه این عوامل محرک بیان ژن HIF-1 می‌باشند (۱۷). علاوه بر این در حد فاصل تناوب انقباضات عضلانی، جریان خون بافت فعال افزایش می‌یابد که منجر به تنش برشی دیواره عروقی به عنوان یکی از مهم‌ترین ساز و کارهای رگ‌زایی می‌شود. از این رو با احتمال می‌توان اشاره کرد که فعالیت ورزشی مقاومتی می‌تواند مقادیر HIF-1 و به دنبال آن دیگر محرک‌های سرمی VEGF و SDF-1 رگ‌زایی را افزایش دهد. مشخصاً یکی از بارزترین سازگاری‌های فیزیولوژیک به تمرینات مقاومتی افزایش قدرت و هیپرتروفی در انواع تارهای عضلات اسکلتی می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که سطوح HIF-1 توسط مسیر سیگنالی mTOR تنظیم می‌شود. mTOR یک مسیر ضروری برای هیپرتروفی عضلات اسکلتی در پاسخ به افزایش میزان مقاومت در تمرینات قدرتی می‌باشد. بنابراین چنین به نظر می‌رسد که تمرین مقاومتی به واسطه فعال‌سازی مسیر سیگنالی mTOR ممکن است سطوح بیان ژن و پروتئین HIF-1 را افزایش می‌دهد (۱۶، ۱۷). بنابراین با توجه به ماهیت تمرین مورد مطالعه ما که از نوع مقاومتی و به مدت هشت هفته و همراه با رعایت اصل اضافه بار بود، افزایش بیان ژن HIF-1 همسو با مطالعات پیشین بود. علاوه بر مسیرهای سیگنالی مطرح شده در بیان ژن سایتوکاین‌های رگ‌زا، مسیرهای دیگری نیز مطرح می‌باشد، در همین راستا مطالعات نشان دادند که پس از بروز آسیب سلول عضلانی ناشی از فعالیت ورزشی مقاومتی، بین افزایش IL-6 و VEGF همبستگی مثبتی وجود داشت (۱۱) و این افزایش به مدت و شدت فعالیت مقاومتی و توده عضلانی درگیر بستگی دارد. لذا با احتیاط می‌توان اظهار کرد که در مطالعه ما نیز هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به بروز آسیب سلول عضلانی و تاندونی شده باشد و همین امر افزایش بیان ژن VEGF را مستقل از HIF-1 رقم زده باشد. بنابراین ممکن است علاوه بر مسیر HIF-1، شدت تمرین مقاومتی در مطالعه حاضر پاسخ التهابی بیشتری را ایجاد کرده و توانسته

است افزایش VEGF را به دنبال داشته باشد. دیگر ساز و کار غیر مستقیم که می‌تواند مقادیر HIF-1 و به دنبال آن VEGF و SDF-1 را افزایش دهد، همچنین فعالیت ورزشی از طریق تخلیه شارژ انرژی سلولی و افزایش Ca^{2+} درون سلولی و متعاقب آن، فعال شدن سیگنالینگ کالمودولین-کلسی نورین باعث افزایش بیان ژن PGC-1 α می‌شوند و مشخص شده است که مسیر PGC-1 α /ERR- α برای فعال سازی بیان ژن VEGF به طور آشکاری مستقل از مسیر HIF-1 می‌باشد (۳۲ - ۲۸). علاوه بر این، مسیرهای فعال سازی دیگری برای بیان VEGF نظیر مسیر فعالیت حسگرهای متابولیک AMPK که به ناکافی بودن مواد متابولیک حساس است می‌تواند در این امر مؤثر باشد. فرگوسن و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که فعالیت مقاومتی کم شدت با افزایش Ca^{2+} درون سلولی ناشی از انقباض عضلانی، تولید ROS و افزایش نسبت AMP به ATP، منجر به فسفوریلاسیون p38MAPK می‌شود و این امر باعث افزایش فعالیت PGC-1 α می‌گردد و تنظیم افزایشی سطوح HIF-1 رخ می‌دهد (۳۳).

SDF-1 در بسیاری از بافت‌های بدن از جمله مغز، تیموس، قلب، ریه، کبد، طحال، کلیه و مغز استخوان ساخته می‌شود (۳۴، ۳۳) و همین منابع گوناگون تولید SDF-1 بیانگر نتایج متناقض در مطالعات مختلف می‌باشد. SDF-1 از جمله عوامل رگ‌زای مرتبط با تمرینات ورزشی می‌باشد و مطالعات محیط ایسکمیک عضله اسکلتی ناشی از تمرین ورزشی را به عنوان منبع احتمالی آن معرفی کرده‌اند (۳۴). تغییرات در بیان ژن SDF-1 به دنبال ورزش متفاوت است و به عواملی نظیر شدت، مدت و یا نوع ورزش بستگی دارد. در همین ارتباط ریریو و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده کردند شدت بالاتر تمرین، باعث افزایش معنی‌داری در مقادیر بیان ژن SDF-1 نشد (۳۵). استرومبرگ و همکاران (۲۰۱۷) در پاسخ به ۶۰ دقیقه رکاب زدن با شدت ۵۰ تا ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی تغییر معنی‌داری در مقادیر بیان ژن SDF-1 مشاهده نکردند (۳۶). بنابراین از دلایل احتمال ناهمسو بودن نتایج مطالعه حاضر با نتایج این مطالعات می‌توان به نوع و شدت پروتکل ورزشی و شیوه تمرین دهی به کار گرفته شده اشاره نمود، زیرا پروتکل ورزشی استفاده شده در این مطالعات، پروتکل‌های تمرینی شامل راه رفتن روی تردمیل یا ورزش‌های بدون تحمل وزن بود و تحریک تمرینی مناسب برای بیان فاکتورهای ذکر شده را نداشتند. همچنین مشخص شده است که تمرین مقاومتی موجب افزایش و حفظ توده عضلانی به واسطه افزایش تولید برخی هورمون‌های آنابولیک به ویژه تستوسترون می‌شود (۱۴، ۱۵). چنین به نظر می‌رسد که به دنبال تمرین مقاومتی و افزایش مقادیر هورمون‌های رشدی از جمله GH و فعال سازی محور GH-IGF-1، افزایش HIF-1 رخ می‌دهد. سپس HIF-1 با اثرگذاری بر ناحیه پیش برنده ژن VEGF باعث افزایش بیان آن می‌گردد (۳۸). روجاز و همکاران (۲۰۱۰) تأثیر فعالیت ورزشی مقاومتی با شدت بالا بر مقادیر سرمی VEGF و IGF-1 را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که میزان مقادیر سرمی IGF-1 افزایش داشت، ولی مقادیر سرمی VEGF افزایشی نداشته است (۳۸). این عدم همخوانی با نتایج مطالعه ما را می‌توان در سطوح اندازه گیری سطوح VEGF جستجو کرد، چرا که آن‌ها سطوح پروتئینی پلاسما VEGF را مورد بررسی قرار دادند حال آنکه در مطالعه ما بیان ژن VEGF اندازه‌گیری شد. نوع پروتکل ورزشی و همچنین شیوه تمرین دهی نیز می‌تواند دلیل دیگری برای این تفاوت در نتیجه باشد، چرا آن‌ها یک جلسه فعالیت ورزشی مقاومتی با شدت بالا را مورد بررسی قرار

دادند و در مطالعه حاضر ما هشت هفته تمرین مقاومتی را مورد بررسی قرار گرفت. از این رو افزایش در بیان ژن HIF-1، VEGF و SDF-1 در نتیجه هشت هفته تمرین مقاومتی در مردان سالمند در مطالعه حاضر را تا حدودی می‌توان به افزایش تستوسترون و فعال سازی محور GH-IGF1 احتمالی در آزمودنی‌های مورد بررسی نسبت داد.

در حین انجام تمرین مقاومتی، انقباض و کشش عضلانی و افزایش جریان خون باعث ایجاد تنش برشی و فشارهای مکانیکی می‌شود که می‌تواند باعث رهاسازی NO شود. تحقیقات زیادی نشان داده‌اند NO در فعال‌سازی مسیر سیگنالی VEGF نقش کلیدی دارد (۳۸). بنابراین اتساع کنده‌های عروقی می‌توانند، موجب تنظیم افزایشی بیان ژن VEGF شوند. این احتمال وجود دارد که در نتیجه هشت هفته تمرین مقاومتی سازگاری‌های کسب شده، سالمندان مطالعه ما ظرفیت بیان ژن VEGF بیشتری کسب کرده باشند. گوستافسن و همکاران (۲۰۰۹) به این نتیجه دست یافتند که میزان VEGF در زمان استراحت در مردان ورزشکار نسبت به مردان غیر ورزشکار پایین‌تر است (۳۹)، آن‌ها بیان کردند که در سازگاری با تمرین ورزشی، نسخه برداری از VEGF کاهش می‌یابد، زیرا با تمرین‌های ورزشی میزان mRNA VEGF کاهش می‌یابد. در توجیه این تناقض نشان داده شد که یکی از مهمترین منابع برداشت VEGF سرم، عضلات اسکلتی می‌باشند. پس این احتمال وجود دارد که افراد فعال به دلیل داشتن توده‌ی عضلانی بیشتر، میزان کلیرانس بیشتری نسبت به افراد غیر فعال داشته باشند (۳۹). در همین ارتباط مشخص شده است که در پاسخ به فعالیت ورزشی، به ویژه فعالیت ورزشی مقاومتی پروتئین VEGF از عضله اسکلتی وارد گردش خون می‌شود (۳۹). بنابراین میزان پروتئین VEGF خون سرخرگی با میزان پروتئین VEGF خون سیاهرگی در پاسخ به فعالیت ورزشی متفاوت می‌باشد و همین امر می‌تواند توجیهی بر نتایج متفاوت از مطالعات مختلف که با مطالعه حاضر همسو نیستند، باشد. هیسکوک و همکاران (۲۰۰۳)، تعادل سرخرگی _ وریدی VEGF در هفت مرد فعال در پاسخ به یک جلسه فعالیت مقاومتی طولانی مدت را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که پروتئین VEGF سرخرگی _ وریدی کاهش یافته است (۴۰). از دلایل احتمالی این عدم همسویی نتایج مطالعه هیسکوک و همکاران با مطالعه حاضر می‌توان به سطح اندازه‌گیری VEGF اشاره کرد چرا که آن‌ها پروتئین VEGF را در خون سرخرگی _ وریدی مورد بررسی قرار دادند و در مطالعه حاضر، ما بیان mRNA VEGF را مورد ارزیابی قرار دادیم. نورشاهی و همکاران (۱۳۹۱) نتیجه گرفتند که تمرین مقاومتی بر روند رگ‌زایی بافت تومور و رشد آن بی تأثیر است (۴۱). دلیل این عدم همخوانی می‌توان به نوع پروتکل‌های بکار برده شده در مطالعه باشد چرا که آن‌ها شش تا هشت تکرار بالا رفتن از نردبان را به عنوان تمرین مقاومتی بررسی کردند و نوع آزمودنی‌ها در مطالعه آن‌ها موش سرطانی سینه بود. در نهایت می‌توان چنین جمع بندی کرد که تمرین مقاومتی از طریق چندین مسیر سیگنال‌دهی موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن عوامل رگ‌زا می‌شود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که انجام هشت هفته تمرین مقاومتی توانست منجر به ثبت افزایش در بیان ژن سیتوکین‌های رگ‌زایی به‌ویژه HIF-1، SDF-1 و VEGF و در ارتباط با بیان ژن VEGF اگر چه این ژن بیان پایه داشت؛

ولی هیچ گونه افزایش یا کاهش مشاهده نگردید؛ بنابراین با احتیاط می توان گفت که انجام تمرینات مقاومتی که از شدت و حجم کافی برخوردار باشند مستقل از نقشی که در بهبود کیفیت زندگی، افزایش توده عضلانی و کاهش خطر افتادن دارد، می تواند به عنوان مکمل تمرینات هوازی در سالمندی موجب افزایش رگ زایی در بدن شود و از این طریق فوایدی را در زمینه پیش آماده سازی و درمان بیماری های قلبی عروقی به متولیان حوزه سلامت ارائه دهد. علاوه بر این مطالعه ما پیشنهاد می کند که عوامل مهم تأثیرگذار در روند رگ زایی در سطوح بیان ژن و پروتئینی با استفاده از سایر روش های تمرینی مانند تمرینات هوازی و ترکیبی مورد بررسی قرار گیرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

پروتکل مطالعه حاضر در پژوهشگاه علوم ورزشی بر اساس موازین اخلاقی وزارت علوم به شماره IR.SSRI.REC.1397.219 (۴۳۴۵۳) به تصویب رسید.

حامی مالی

این مطالعه برگرفته از رساله دکتری تحت عنوان تأثیر تمرین مقاومتی بر بیان ژن $VEGF$, $SDF-1\alpha$, $HIF-1\alpha$ و تعداد سلول های پیش ساز اندوتلیال بافت خون پس از یک جلسه فعالیت مقاومتی در افراد سالمند در دانشگاه شهید رجایی تهران است.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در نگارش مقاله به یک اندازه مشارکت داشته اند.

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله مقطع دکتری فیزیولوژی ورزش است و بدین وسیله از اساتید محترم برای ارائه نظرات مفید و ارزنده در به انجام رساندن این مطالعه و همچنین از مؤسسه خیریه کهریزک کرج و تمامی آزمودنی های شرکت کننده کمال تشکر و قدردانی را دارم.

References

1. Karami S, Shahidi F, Rajabi H, Golab F. Response of Endothelial Progenitor Cells and Expression of Angiogenic Cytokine Genes in Preconditioning with Resistance Training in Elderly Men. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2020; 22 (4):337-348. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001.1.16834844.1399.22.4.7.0>
2. Ebrahimi Z, Esmaeilzadeh Ghandehari M R, Veisi K. The Effect of Physical Activity Based on Intergenerational Programs on the Quality of Life of Older Adults. *Iranian Journal of Ageing* 2020; 14 (4):406-421. DOI: <http://dx.doi.org/10.32598/sija.13.10.440>
3. MG Bembien, Y Sato, T Abe, M Karabulut. The effects of low-intensity resistance training with vascular restriction on leg muscle strength in older men. *Eur J Appl Physiol*. 2010;108(1):147-55. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00421-009-1204-5>
4. Mehri Alvar Y, Sayevand Z, Erfani Adab F, Heydari Moghadam R, Samavat Sharif M.A, Karami S. The effects of five weeks' resistance training on some vascular growth factors in sedentary men. *Sport Physiology*. 2016; 8 (29): 15-30. DOI: <https://doi.org/10.22089/spj.2016.645>
5. Karami S, Ramezani A. Adaptation in Response of Excitation and Inhibition Factors of Angiogenesis after 4 Weeks of Progressive Resistant Training in Sedentary Men. *Intern Med Today*. 2016; 22 (4) :267-274. DOI: <http://dx.doi.org/10.18869/acadpub.hms.22.4.267>
6. Yao JJ, Zhang M, Miao XH, et al. Isoform of vascular endothelial cell growth inhibitor (VEG172-251) increases interleukin-2 production by activation of T lymphocytes. *Acta Biochim Biophys Sin*. 2006; 38: 249-253. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2006.00155.x>
7. Zemani F, et al. Ex vivo priming of endothelial progenitor cells with SDF-1 before transplantation could increase their pro angiogenic potential. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2008; 28 (4) :644–650. DOI: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.160044>
8. Poulaki V, Jousen A, Mitsiades N, Mitsiades C, Iliaki E, Adamis A. Insulin-like growth Factor-I plays a pathogenetic role in diabetic retinopathy. *The American Journal of Pathology*. 2004; 165(2): 457-69. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63311-1](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63311-1)
9. Gavin TP, Drew JL, Kubik CJ, Pofahl WE, Hickner RC. Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression. *Acta Physiol*. 2007;191(2):139-46. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2007.01723.x>
10. Ross MD, Wekesa AL, Phelan JP, Harrison M. Resistance exercise increases endothelial progenitor cells and angiogenic factors. *Med Sci Sports Exerc*. 2014; 46(1): 16-23. DOI: <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e3182a142da>
11. Schulze Tanzil, G, Al-Sadi, O, Wiegand, E, Ertel, W, Busch, C, Kohl, B, & Pufe, T. The role of pro-inflammatory and immunoregulatory cytokines in tendon healing and rupture: new insights. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2011; 21(3), 337-351. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2010.01265.x>
12. Grunewald M, Avraham I, Dor Y, Bachar- Lustig E, Itin A, Yung S, et al. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell*. 2006; 124: 175– 189. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.10.036>
13. W.H. Xia, J. Li, C. Su et al. Physical exercise attenuates age-associated reduction in endothelium-reparative capacity of endothelial progenitor cells by increasing CXCR4/JAK-2 signaling in healthy men. *Aging Cell*. 2012; 11(1): 111–119. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2011.00758.x>
14. Liao C, Wu Y, Lin F, Tsai W, Liu S & Chiang H. Testosterone replacement therapy can increase circulating endothelial progenitor cell number in men with late onset hypogonadism. *Andrology*. 2013; 563–569. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00086.x>
15. Cheng, M, Qin G. Progenitor cell mobilization and recruitment: SDF-1, CXCR4, alpha4-integrin, and ckit. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2012; 111: 243-64. DOI: <https://doi.org/10.1016%2FB978-0-12-398459-3.00011-3>
16. Hellsten Y, Rufener N, Nielsen JJ, Hoier B, Krstrup P, Bangsbo J. Passive leg movement enhances interstitial VEGF protein, endothelial cell proliferation, and eNOS mRNA content in human skeletal

- muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008; 294(3): 975-82. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00677.2007>
17. Karami S, Rajabi H. The Effect of Resistance Training on Selected Hemodynamic and Functional Factors of the Older Adults Residents of a Nursing Home in Kahrizak (Persian). *Salmand: Iranian Journal of Ageing.* Forthcoming 2024. Doi: <http://dx.doi.org/10.32598/sija.2024.2548.1>
18. Holloway TM, Snijders T, VAN Kranenburg J, VAN Loon LJC, Verdijk LB. Temporal V Response of Angiogenesis and Hypertrophy to Resistance Training in Young Men. *Med Sci Sports Exerc.* 2018; 50(1):36-45. DOI: <https://doi.org/10.1249/mss.0000000000001409>
19. Esfahanni P, Jahangir K, Khazaei M. Alterations of plasma nitric oxide, vascular endothelial growth factor, and soluble form of its receptor (sFlt-1) after resistance exercise: An experimental study. *Advanced Biomedical Research.* 2014; 31(3): 140. DOI: <https://doi.org/10.4103/2277-9175.137834>
20. Shekarchizadeh, P, Khazaei M, Gharakhanlou, R, Karimian, J, Safarzadeh, A.R. The Effects of Resistance Training on Plasma Angiogenic Factors in Normal Rats. *Journal of Isfahan Medical School.* 2012; 30(6):1-8. (Persian). DOI: https://jims.mui.ac.ir/article_13744.html?lang=en
21. Gaeini AA, Bahramian A, Javidi M. The effect of eight weeks of resistance training on stimulatory and inhibitory factors of cardiac microvascular injuries in wistar diabetic rats. *Metabolism and exercise.* 2013; 3(1):21-32. DOI: https://jme.guilan.ac.ir/article_692.html?lang=en
22. Mohaqeqi Kamal S H, Basakha M. Prevalence of Chronic Diseases Among the Older Adults in Iran: Does Socioeconomic Status Matter. *Salmand: Iranian Journal of Ageing* 2022; 16 (4) :468-481. DOI: <http://dx.doi.org/10.32598/sija.2022.16.4.767.2>
23. Tayeri S, Jafari M, Alimohammadzadeh K, Hosseini S M, Shahanaghi K. A Conceptual Model for Iranian Older Women's Health: A Review Study. *Salmand: Iranian Journal of Ageing* 2021; 16 (3) :304-329. DOI: <http://dx.doi.org/10.32598/sija.2021.16.3.3090.1>
24. Negaresh R, Ranjbar R, Habibi A, Gharibvand MM. Effects of eight weeks resistance training on muscle hypertrophy and physiological parameters among elderly men. *Journal of Geriatric Nursing* 2016; 3 (1): 62-75. DOI: <http://dx.doi.org/10.21859/sija-120154>
25. Brzycki M. Strength-predicting a one-rep max from reps-to-fatigue. *J Phys Educ Rec Dance* 1993; 64(1): 88-90. DOI: <https://doi.org/10.4236/jamp.2017.58127>
26. Jorge L.Ruas, James P.White, Rajesh R.Rao, Sandra Kleiner, Kevin T.Brannan, Brooke C.Harrison. A PGC-1 α Isoform Induced by Resistance Training Regulates Skeletal Muscle Hypertrophy. *Cell* 2012; 151, 6, 7, 1319-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.050>
27. American College of Sports Medicine. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2013. 223-30. DOI: <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e318213febf>
28. Karami S, Kashef M, Mehri Alvar Y. Protective Effect of Glutamine by the Expression of HSP70 and Reduction of Cortisol on Exercise Induced Stress. *J Arak Uni Med Sci* 2015; 17 (10) :65-73. DOI: <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-3075-en.html>
29. Graef FI, Pinto RS, Alberton CL, de Lima WC, Kruel LF. The effects of resistance training performed in water on muscle strength in the elderly. *J Strength Cond Res* 2010; 24: 3150–6. DOI: <https://doi.org/10.1519/jsc.0b013e3181e2720d>
30. Lunde IG, Anton SL, Bruusgaard JC, Rana ZA, Ellefsen S, Gundersen K. Hypoxia inducible factor 1 α links fast patterned muscle activity and fast muscle phenotype in rats. *The Journal of physiology.* 2011; 589(6):1443-54. DOI: <https://doi.org/10.1113%2Fjphysiol.2010.202762>
31. Mirdar S, Arab A. Evaluation of the Effect of a Swimming Training Program on Levels of Lung Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) in Pups. *Qom University of Medical Sciences Journal.* 2013; 7 (3). 11-20. DOI: <http://dorl.net/dor/20.1001.1.17357799.1392.7.3.3.6>
32. Karami S, Sdahidi F, Rajabi H, Golab F. Effect of 8-week resistance training on HIF-1 α gene expression and Endothelial Progenitor Cells recall of blood after one session of resistance activity in elderly men. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2019; 16 (2) :124-132. DOI: <http://bloodjournal.ir/article-1-1249-en.html>
33. Richard A. Ferguson, Julie E. A. Hunt, Mark P. Lewis, Neil R. W. Martin, Darren J. Player, V Carolin Stangier, Conor W. Taylor & Mark C. Turner. The acute angiogenic signalling response V to low-load resistance exercise with blood flow restriction. *European Journal of Sport Science.* 2018; 18:3, 397-406. DOI: <https://doi.org/10.1080/17461391.2017.1422281>

34. Kordi, Negin et al. Ferroptosis and Aerobic Training in Ageing: A Review. 1 Jan. 2024: 1 – 20. Marc SP. Importance of the SDF-1: CXCR4 Axis in Myocardial Repair. *Circulation Research*. 2009; 104: 1133-5. DOI: <https://doi.org/10.3233/ch-232076>
35. Fernando Ribeiro, Ilda P. Ribeiro, Ana C. Goncalves, Alberto J. Alves, Elsa Melo, Raquel Fernandes. Effects of resistance exercise on endothelial progenitor cell mobilization in women. *SCIENTIFIC Reports*. 2017; 7:17880. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18156-6>
36. Anna Stromberg, Eric Rullman, Eva Jansson, and Thomas Gustafsson. Exercise-induced upregulation of endothelial adhesion molecules in human skeletal muscle and number of circulating cells with remodeling properties. *J Appl Physiol*. 2017; 122: 1145–1154. DOI: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00956.2016>
37. Hellsten Y, Rufener N, Nielsen JJ, Høier B, Krstrup P, Bangsbo J. Passive leg movement enhances interstitial VEGF protein, endothelial cell proliferation, and eNOS mRNA content in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008; 294(3): R975-82. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00677.2007>
38. Rojas Vega S, Knicker A, Hollmann W, Bloch W, Strüder HK. Effect of resistance exercise on serum levels of growth factors in humans. *Horm Metab Res*. 2010;42(13):982-6. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1267950>
39. Gustafsson T, Knutsson A, Puntschart A, Kaijser L, Nordqvist AC, Sundberg CJ, et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor in human skeletal muscle in response to short term one-legged exercise training. *Pflugers Arch*. 2009; 444: 752-9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00424-002-0845-6>
40. Hiscock, N, Fischer, C. P, Pilegaard, H, & Pedersen, B. K. Vascular endothelial growth factor mRNA expression and arteriovenous balance in response to prolonged, submaximal exercise in humans. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2012; 285 (4): 1759-1763. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00150.2003>
41. Nourshahi M, Hedayati, M, Nemati, J, Ranjbar, K, Gholamali, M. Effect of 8 weeks endurance training on serum vascular endothelial growth factor and endostatin in Wistar rats. *Koomesh* 1391; 13 (4) :474-479. DOI: <https://sid.ir/paper/36973/en>