

Research Paper

Comparison of NRF2 gene Polymorphism rs12594956 in Elite and Amateur Karate-Kas vs. Non-Athletes**M. R. Batavani¹, S. M. Marandi², N. Boroushak³, K. Ghaedi⁴**

¹ Assistant Professor, Center of Physical Education, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-83111, Iran (Corresponding Author)

Email: batavani@iut.ac.ir

² Professor, Sports Physiology Department, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran

³ Assistant Professor, Department of Sports Biomechanics, Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran

⁴ Professor, Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan

Received: 2022/04/15

Accepted: 2023/08/05

Abstract

Objectives: The genetic status of athletes plays a significant role in their success. Considering the importance of NRF2 gene polymorphism in aerobic capacity as one of the success factors of athletes, the purpose of this study is to investigate the NRF2 gene polymorphism in elite karate athletes and compare it with amateur and non-athlete groups.

Materials and Methods: The statistical samples included 258 people (three groups of elite karate practitioners, amateurs and non-athletes) with the same average age, height and weight. Blood samples were collected in tubes containing EDTA, after DNA and PCR extraction for determining the type of polymorphisms after preparation of primers were electrophoresed on agarose gel using RFLP method and MfeI enzyme. To analyze the data, simple ANOVA, chi-square and logistic regression methods were used in SPSS version 21 software. The significance level was also determined as $p < 0.05$. **Findings:** The results showed that there was a significant intra-group difference in the distribution of A/C marker 12594956rs NRF2 gene genotypes in the groups of amateurs ($\chi^2=8.667$, $P=0.013$) and non-athletes ($\chi^2=6.494$), $P = 0.039$). While this distribution showed no significant difference between the groups ($\chi^2=3.121$, $P=0.528$). In addition, in elite athletes, compared to non-athletes, the frequency of NRF2: A/A genotype is higher than NRF2: C/C with a coefficient of 1.049, and the frequency of NRF2: A/C is higher than NRF2: C/C with a coefficient of 0.918. **Conclusion:** The results of the present research show the

1. Email: batavani@iut.ac.ir
2. Email: s.m.marandi@spr.ui.ac.ir
3. Email: nedaboroushak@yahoo.com
4. Email: kamranghaedi@yahoo.com



increase of genotypes related to the lower function of the NRF2 gene for the aerobic energy supply system.

KeyWords: NRF2, Karate, Elite, Amateur, Polymorphism

Extended Abstract

Introduction. The genetic status of athletes plays a significant role in their success. Evidence shows that genetic markers may explain to some extent the variability of physical performance characteristics between individuals in response to training (1). According to the development of technology and genetic sciences, the human genome map related to sports performance and physical preparation related to health was prepared by Rankinen et al (2001), also this map is updated annually (2). The nuclear respiratory factors NRF2 coordinate the expression of nuclear and mitochondrial genes relevant to mitochondrial biogenesis and respiration. Carriers of a polymorphism in the sequence of translation initiator ATG in the NRF2 gene have higher training response in running economy than non-carriers, thus potentially explaining some of the inter-individual variance in endurance capacity (3).

Karate is one of the most competitive martial arts that is based on physiological principles and its one of the most complete forms of physical training (4). Doria et al. (2009) showed that during the sequence of the Kumite, both aerobic and anaerobic energy supply systems are involved, and with the increase or prolongation of the fight, the role of the aerobic system increases to some extent (5). From a genetic point of view, Batavani and Ghaedi (2022) reported that the overall score of genes related to anaerobic function (ACE, HIF1 α and IGF1) in elite karate athletes (69.8) is higher than amateur karate athletes (64.4)(6). Although the association of single nucleotide polymorphisms related to anaerobic performance has been investigated in elite karate athletes, the relationship of single nucleotide polymorphisms related to aerobic performance, which is related to mitochondrial biogenesis and endurance performance, has not been studied so far. Since the importance of the NRF2 gene polymorphism in aerobic capacity, the aim of this study was the comparison of NRF2 gene polymorphism rs12594956 in elite and amateur karate-kas vs. non-athletes.

Material and Methods

This study was done on 252 healthy Isfahanian subjects sub-divided into elite (N= 86) with height (169 ± 7.1 cm), weight (64.3 ± 3.1 kg), age (26 ± 0.9 years); amateur (N= 80) with height (171 ± 6.5 cm), weight (66.9 ± 2.8 kg), age (27 ± 0.8 years); karate-kas vs. non-athlete with (N= 86) height (171 ± 7.3 cm), weight (67.6 ± 4.1 kg), age (28 ± 1.1 years) (mean \pm standard deviation) people. All groups had



the same anthropometrics characteristic together. All subjects in elite group were members of Iran national teams (Jounior & senior/ male & female in last decade) who has earned a medal or good score in world, Asian, international or national championships. All members in amateur group succeeded to take the black belt in karate (at least four years' experience in karate), but they didn't succeed to get any score or medal in aforementioned championships. The subjects were familiarized with the experimental conditions and gave their written consent to participate in the experiment. Further, there were no familial relation inter- and intra-groups of subjects. The amount of 5cc blood from brachiocephalic vein was taken in tubes include of EDTA, then DNA was extracted using modified salting-out method. The genotyping of polymorphisms were determined by PCR using a specific primer pair (the forward primer, 5'_TAAAATGAATAAAGGTGGGGGT_3; the reverse primer, 5'_TAAGAGTGGAAGGGTGGAGAA_3). PCR conditions were set, one cycle for 5 min at 94°C as the preliminary denaturation step, 35 repetitive amplification cycles including 30 Sec at 94°C, 45 Sec at 58°C and 60 Sec at 72°C, followed by a final cycle for 7 min at 72°C. Amplicons, 407 bp in length were treated with the restriction endonuclease *MfeI*. A 407 bp fragment corresponded to the Allele was able to cut producing 277- and 130-bp fragments. If the length of fragment was 407, it would demonstrate C/C genotype and whether the length of fragments were 277 and 130, it would demonstrate A/A genotype, and if the length of fragments were 130, 277 and 407 it would demonstrate A/C genotype. The restriction fragment lengths of the products were analyzed by electrophoretic separation in 1% Agarose gel followed by staining with ethidium bromide and visualization in transmitted ultraviolet light. The graph was prepared with the GraphPad InStat software. Non-parametric Chi-Square and one-way ANOVA was used to assess the statistically differences and logistic regression to assess the relation of elite status and genotype by using the SPSS software. The level of significance was considered at $P < 0.05$.

Results

The results of the present study showed that there were within-group differences in A/C genotypes frequency in amateur (AA: 37.03 %, AC: 44.4 %, CC:18.51%) ($\chi^2=8.667$, $P=0.013$) and non-athletes (AA:27% , AC: 46 %, CC:27%) ($\chi^2=6.494$, $P=0.039$) groups that the AC genotype was more significantly prevalent than two other A/C genotypes. However, there was no significant difference between three groups ($\chi^2=3.121$, $P=0.528$) in the frequency of A/C genotypes NRF2 gene. was



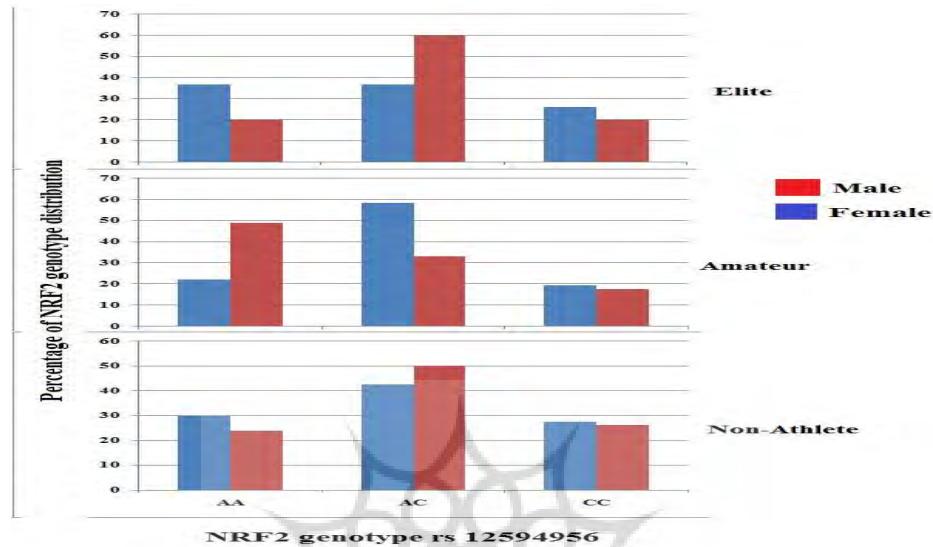


Figure. Distribution of NRF2 gene A/C genotypes rs12594956 in elite and amateur karate-kas and non-athlete

Conclusion

The results showed that the frequency of A/C genotypes NRF2 gene was no different between three groups. Moreover, the results of the present study showed the increase of genotypes related to the lower function of the NRF2 gene for the aerobic energy supply system.

Perhaps one of the reasons for the non-significance of the distribution of genotypes in the elite group is the small number of subjects. On the other hand, due to the importance of different factors of physical fitness and different energy supply systems in karate, it is necessary to investigate the genomics of karate-kas in the form of polygenetic as total genetic score (TGS).

References

1. Ahmetov II, Fedotovskaya ON. Current progress in sports genomics. *Advances in Clinical Chemistry*. 2015; 70:247-314. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26231489/>
2. Rankinen, T, An P Rice, T, Sun G, Chagnon . C, Gagnon J, Bouchard C. Genomic scan for exercise blood pressure in the health, risk factors, exercise training and genetics (HERITAGE) family study. *Hypertension*.2001; 38(1), 30-37. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11463756/>



3. Lippi G, Longo UG, Maffulli N. Genetics and sports. British medical bulletin. 2010 Mar 1;93(1):27-47.
4. N Boroushak, M Anbarian, A Comparison of Time to Peak Torque and Acceleration Time in Elite Karate Athletes. Journal of Paramedical Science and Rehabilitation. 2015; 4(2): 69-75 https://jpsr.mums.ac.ir/article_4384.html
5. Doria C, Veicsteinas A, Limonta E, Maggioni MA, Aschieri P, Eusebi F, et al. Energetics of karate (kata and kumite techniques) in top-level athletes. European Journal of Applied Physiology. 2009;107(5):603-10. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19711097/>
6. Batavani, M.R, Ghaedi, K. Comparison of Total Genotype Score (TGS) of Power/Strength Responsible ACE, HIF1 α and IGF1 Polymorphisms of Elite, Amateur Karate-kas vs. nonAthletes. Sport Physiology. 2022; 14(53): 149-176. [In Persian]. https://spj.ssrc.ac.ir/article_2207_en.html



مقایسه پلی مورفیسم ژن NRF2 rs12594956 در کاراته کاران نخبه، آماتور و غیرورزشکار

محمدرضا باتوانی^۱، سیدمحمد مرندی^۲، ندا بروشک^۳، کامران قائدی^۴

۱. استادیار مرکز تربیت بدنی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶، ایران (نویسنده مسئول)
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳. استادیار گروه بیومکانیک ورزشی، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران
۴. استاد گروه سلولی و مولکولی و میکروبی شناسی، دانشکده علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۶

چکیده

وضعیت ژنتیکی ورزشکاران در موفقیت آن‌ها نقش بسزایی دارد. با توجه به اهمیت پلی مورفیسم ژن NRF2 در توان هوازی به عنوان یکی از عوامل موفقیت ورزشکاران، هدف از انجام این تحقیق، بررسی پلی مورفیسم ژن NRF2 در کاراته کاران نخبه و مقایسه آن با گروه های آماتور و غیرورزشکار بود. نمونه های آماری پژوهش، ۸۶ نفر کاراته کار نخبه با میانگین سن (۲۶±۰/۹ سال)، قد (۱۶۹±۷/۱ سانتی متر) و وزن (۶۶/۳±۳/۱ کیلوگرم)، ۸۰ نفر کاراته کار آماتور با میانگین سن (۲۷±۰/۸ سال)، قد (۱۷۱±۶/۵ سانتی متر) و وزن (۶۶/۹±۲/۸ کیلوگرم) و ۸۶ نفر غیر ورزشکار با میانگین سن (۲۸±۱/۱ سال)، قد (۱۷۱±۷/۳ سانتی متر) و وزن (۶۷/۶±۴/۱ کیلوگرم) بودند. نمونه های خونی در تیوب های حاوی EDTA، گردآوری شدند. پس از استخراج DNA و PCR، برای تعیین نوع پلی مورفیسم ها پس از تهیه پرایمر با استفاده از روش RFLP و آنزیم *MfeI*، روی ژل آگاروز الکتروفورز شدند. برای تجزیه و تحلیل داده ها از روش های آمار آنوای ساده، کای اسکوئر و رگرسیون لجستیک در نرم افزار اسپاس اس نسخه ۲۱ استفاده شد. سطح معناداری نیز $P < 0.05$ تعیین شد. نتایج نشان داد، اختلاف معنادار درون گروهی در توزیع ژنوتیپ های A/C مارکر rs12594956 ژن NRF2 در گروه های آماتور ($P = 0.013$) و غیرورزشکاران وجود داشت ($\chi^2 = 6.494$)؛ در حالی که

1. Email: batavani@iut.ac.ir
2. Email: s.m.marandi@spr.ui.ac.ir
3. Email: nedaboroushak@yahoo.com
4. Email: kamranghaedi@yahoo.com



این توزیع بین گروه‌ها تفاوت معناداری را نشان نداد ($\chi^2=3.121$, $P=0.528$). همچنین در ورزشکاران نخبه در مقایسه با غیرورزشکاران، فراوانی ژنوتیپ NRF2: A/A در مقایسه با ژنوتیپ NRF2: C/C با ضریب ۱/۰۴۹ برابر، بیشتر و فراوانی NRF2: A/C در مقایسه با NRF2: C/C با ضریب ۰/۹۱۸ برابر، کمتر بود. در مورد ورزشکاران آماتور نیز فراوانی ژنوتیپ NRF2: A/A در مقایسه با ژنوتیپ NRF2: C/C با ضریب ۱/۷۰۱ برابر در غیرورزشکاران و فراوانی ژنوتیپ NRF2: A/C در مقایسه با NRF2: C/C با ضریب ۱/۳۱۲ برابر در ورزشکاران آماتور در مقایسه با غیرورزشکاران، بیشتر بود. نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده فزونی ژنوتیپ‌های مرتبط با عملکرد پایین‌تر ژن NRF2 برای سیستم تأمین انرژی هوازی است.

واژگان کلیدی: NRF2، کاراته، نخبه، آماتور، پلی مورفیسم.

مقدمه

عملکرد در ورزش و فعالیت‌های بدنی مربوط به آمادگی بدنی، نتیجه عواملی است که به صورت متقابل عمل می‌کنند و می‌توانند به‌طور وسیعی در مقوله‌های محیطی و ژنتیکی دسته‌بندی شوند. به‌تازگی توسعه فناوری، شناسایی سریع ژنوتیپ‌ها و توالی سریع DNA، امکان شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی منحصربه‌فردی را میسر کرده است که در اجرای ورزشی سهم بسزایی ایفا می‌کنند (۱، ۲). تردیدی نیست که عوامل محیطی از قبیل تمرین و تغذیه به‌منظور پیشرفت یک ورزشکار نخبه لازم و ضروری‌اند. این عوامل به‌تنهایی کافی به نظر نمی‌رسند؛ بنابراین جست‌وجو برای بررسی اختلافات ژنتیکی که علتی برای موفقیت در انواع معینی از ورزش‌ها است نیز به امری چالش‌برانگیز تبدیل شده است (۳). به نظر می‌رسد، قرارگرفتن در زمره قهرمانان ورزشی موضوع بسیار پیچیده‌ای است که ممکن است از مجموعه‌ای از تفاوت‌های ژنتیکی هم متأثر شده باشد (۴). شواهد نشان می‌دهد که نشانگرهای ژنتیکی ممکن است تا اندازه‌ای تغییرپذیری مشخصه‌های عملکرد فیزیکی میان‌فردی را در پاسخ به تمرینات توضیح دهند (۵، ۶). تفاوت‌های DNA (با فراوانی در جمعیت یک‌درصدی یا بیشتر) و تغییرات DNA نادر، به‌طور کلی می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای ژنتیکی مربوط به وضعیت ورزشکاران استقامتی یا قدرتی/توانی یا هر دو وضعیت ورزشکار استقامتی و قدرتی/توانی دسته‌بندی شوند (۷). با توجه به توسعه فناوری و علم ژنتیک، رانکین^۱ و همکاران، نقشه ژنوم انسانی مربوط به اجرای ورزشی و آمادگی جسمانی مرتبط با سلامت را تهیه کردند که هرساله این نقشه با توجه به کشف ژن‌های جدید به‌روزرسانی می‌شود (۸). تاکنون در ادبیات مکتوب، بیش

1. Rankinen



از دویست چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی وابسته به برخی مشخصه‌های مربوط به عملکرد و آمادگی گزارش شده است و بری^۱ و همکاران به‌صورت سالانه تا سال ۲۰۰۹، در «نقشه ژن انسانی برای فنوتیپ‌های آمادگی مربوطه به عملکرد و سلامتی» خلاصه کرده‌اند (۹). در حالت ایده‌آل یک پلی‌مورفیسم که بر عملکرد ورزشی تأثیر دارد، نه تنها باید بتواند ورزشکاران را از غیرورزشکاران تشخیص دهد، بلکه باید ورزشکاران نخبه را نیز از ورزشکاران غی نخبه تشخیص دهد (۱۰).

کاراته، یک ورزش رقابتی رزمی است که با متغیرهای وضعیتی مشخص می‌شود که در طی شرایط رخ می‌دهد و به واکنش‌های متنوعی همچون استفاده از تاکتیک‌های حمله و دفاع و حرکات پاها نیاز دارد. براساس قوانین جهانی مبارزه کاراته، کومیته کایی که اولین ضربه را به‌طور صحیح، سریع و با قدرت کافی و کنترل‌شده به حریف وارد کند، امتیاز دریافت می‌کند و سایر ضربات مبارزات پس از آن مشمول امتیاز نخواهد شد. ملاک کسب امتیاز بیشتر کاتاها نیز اجرای صحیح‌تر، سریع‌تر و قدرتمندتر تکنیک‌ها است که همه این روش‌های دینامیکی در بیشتر ثانیه‌های مسابقه با حفظ عملکرد صحیح انجام می‌شود. کاراته هنری است که بر پایه مبانی فیزیولوژیک بنا نهاده شده است و یکی از کامل‌ترین اشکال تمرین فیزیکی است (۱۱، ۱۲). اجرای کاتا یا فرم در کاراته، ۶۰ تا ۱۲۰ ثانیه طول می‌کشد و سیستم انرژی^۲ مصرفی آن ۵۰ درصد هوازی، ۳۰ درصد بی‌هوازی آلکتیک و ۲۰ درصد بی‌هوازی لاکتیکی گزارش شده است (۱۳، ۱۴). مدت‌زمان رقابت کومیته نیز در مردان سه دقیقه و در زنان دو دقیقه است. دوریا^۳ و همکاران نشان دادند که در طول توالی کومیته، هر دو سیستم تأمین انرژی هوازی و بی‌هوازی درگیر است که با افزایش یا طولانی‌شدن مبارزات تاحدودی نقش سیستم هوازی افزایش می‌یابد (۱۵). در تحقیقی دیگر بیان شده است که سیستم انرژی هوازی همچون سیستم تأمین انرژی اسید لاکتیک مهم است (۱۶). از لحاظ ژنتیکی نیز باتوانی و قانیدی، نمره کلی ژن‌های وابسته به عملکرد بی‌هوازی (ACE, HIF1 α and IGF1) در کاراته‌کاران نخبه (۶۹/۸) را بیشتر از کاراته‌کاران آماتور (۶۴/۴) گزارش کردند (۱۰). همچنین برای‌تا و همکاران، ژنوتیپ DI ژن ACE را شایع‌ترین ژنوتیپ در ۱۳ کاراته‌کار اسپانیایی گزارش کردند (۱۷) همان‌طور که نتایج تحقیقات پیشین نشان می‌دهد، هر دو سیستم تأمین انرژی هوازی و بی‌هوازی برای موفقیت کاراته‌کاهای مهم‌اند. ارتباط چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی وابسته به عملکرد بی‌هوازی در کاراته‌کاران نخبه بررسی شده است

1. Bray
2. Boriata
3. Doria



(۱۰)، اما ارتباط چندشکلی های تک نوکلئوتیدی وابسته به عملکرد هوازی که به بیوژنز میتوکنریایی و عملکرد استقامتی مربوط است، تا کنون مطالعه نشده است.

فاکتور رونویسی پروتئین متصل-GA، زیر واحد B (GABPB1) (مکان: ۱۵ (۱۵q21.2)) که به عنوان NRF2 نیز شناخته می شود، یک تنظیم کننده رونویسی از ژن های فعال در بیان سیتوکروم اکسیداز و کنترل هسته ای عملکرد میتوکندری است. افزایش NRF2 بیانگر مؤلفه اصلی تنظیم کننده تحریک بیوژنز میتوکندری با ورزش است. اینون^۱ و همکاران نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ AA در پلی مورفیسم A/C rs12594956 در ۸۹ ورزشکار استقامتی سطح جهانی اسپانیا در مقایسه با ۳۸ ورزشکار قدرتی و ۱۱۰ نفر گروه کنترل، به طور معناداری بیشتر بود (۱۸). کارلوسکا^۲ و همکاران ارتباط بین پلی مورفیسم A/G rs7181866 و وضعیت ورزشکار استقامتی را تأیید کردند؛ یعنی نسبت ژنوتیپ AG و فراوانی آلل G در مقایسه با ۵۵ مرد اهل لهستان به طور درخور توجهی بیشتر بود (۱۹). بابیک^۳ و همکاران نیز نشان دادند که چندین پلی مورفیسم ژنی از جمله GABPB1 ممکن است بر عملکرد تکواندوکاران نخبه تأثیرگذار باشد (۲۰)؛ با وجود این، چگونگی وضعیت ژنوتیپ A/C چندشکلی تک نوکلئوتیدی NRF2 که با بیوژنز میتوکنریایی و عملکرد هوازی مرتبط است، در کاراته کاران بررسی نشده است.

در حال حاضر، نمای چندشکلی تک نوکلئوتیدی ژن NRF2 مؤثر در توان هوازی، به عنوان یکی از عوامل موفقیت در عملکرد ورزشی در کاراته کاران بررسی نشده است؛ بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی چندشکلی تک نوکلئوتیدی ژن NRF2 در کاراته کاران نخبه و مقایسه آن با گروه آماتور و افراد غیرورزشکار انجام شد.

روش پژوهش

مطالعه حاضر به طور مورد-شاهدی با مقایسه پلی مورفیسم ژن NRF2 بین سه گروه کاراته کاران نخبه، آماتور و غیرورزشکاران انجام شد. جامعه هدف پژوهش همه کاراته کاران مرد و زن استان اصفهان بودند. کاراته کاران نخبه ۸۶ نفر از قهرمانان دارای رتبه در سطوح کشوری، بین المللی، آسیایی و جهانی و اردونشینان تیم ملی بودند که طی درخواست کتبی از هیئت کاراته استان اصفهان معرفی شده بودند. همچنین ۸۶ نفر از کاراته کاران به عنوان گروه آماتور (حداقل دارای کمر بند سیاه و چهار سال

1. Eynon
2. Karłowska
3. Babić



سابقه فعالیت و بدون سوابق موفقیت گروه نخبه) و ۸۶ نفر از افراد عادی جامعه (بدون سابقه تمرین منظم در ورزش) نیز به عنوان گروه غیرورزشکار، به طور هدفمند و در دسترس به گونه‌ای انتخاب شدند که در انتخاب آن‌ها برخورداری از سن، قد و وزن مشابه گروه نخبه ملاک انتخاب در نظر گرفته شده بود (جدول شماره یک). برخورداری از سلامت جسمانی (براساس آزمون CBC) و نبود بیماری‌های تأثیرگذار ژنتیکی، تکمیل فرم رضایت‌نامه کتبی، حداقل سن ۱۶ سال و نبود رابطه فامیلی بین آزمودنی‌ها، از جمله ملاک‌های ورود به مطالعه حاضر بود. شایان ذکر است، شش نفر از قهرمانان گروه نخبه نیز در زمان مقرر موفق به حضور در نمونه‌گیری نشدند و از مطالعه خارج شدند.

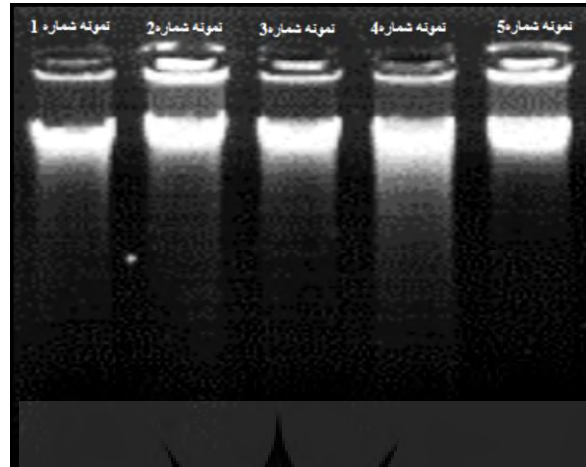
جدول ۱- اطلاعات توصیفی آزمودنی‌های بررسی شده در مطالعه

Table 1- Descriptive information of the subjects examined in the study

فرلوانی Frequency	Sex جنسیت (تعداد) (No)	Category بخش مبارزاتی (درصد) (%)	میانگین \pm انحراف معیار وزن (کیلوگرم) Weight (kg) Mean	میانگین \pm انحراف معیار قد (سانتی متر) Height (cm) Mean	میانگین \pm انحراف معیار سن (سال) Age (year) Mean	Group گروه
	مرد Male	کاتا Kata				
	زن Female	کومیته Kumite				
		Both هر دو				
86	42	18	64.3 \pm 3.1	169 \pm 7.1	26 \pm 0.9	نخبه Elite
80	40	15	66.9 \pm 2.8	171 \pm 6.5	27 \pm 0.8	آماتور Amateur
86	42	-	67.6 \pm 4.1	171 \pm 7.3	28 \pm 1.1	غیرورزشکاران Non-athletes
Comparisons of Means نتایج آزمون‌های مقایسه‌ای آماری برای مقادیر عددی سن، قد و وزن گروه‌های مختلف (weight, height & age)						
			F= 1.97 Sig= 0.141	F= 0.794 Sig= 0.45	F= 2.649 Sig= 0.07	

استخراج DNA: از طریق هماهنگی با آزمایشگاه، پنج میلی لیتر خون از سیاهرگ بازویی افراد گرفته شد و در تیوب‌های حاوی EDTA vacuum در دمای ۲۱- درجه سانتی گراد نگهداری شد. DNA هریک از افراد با استفاده از روش نمک‌اشباع و رسوب به وسیله الکل استخراج شد. غلظت DNA استخراج شده بین ۱۳۰ تا ۴۴۰ ng/ μ l بود. نسبت جذب ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر نمونه‌ها بین ۱/۸ تا ۱/۹۶ بود (۲۰).





شکل ۱- نتایج مربوط به استخراج DNA ژنومی از سلول های خون محیطی انسان روی ژل آگارز ۱٪ (۵ نمونه (تیبیک) نشان داده شده است)

Figure 1- The results of genomic DNA extraction from human peripheral blood cells on 1% agarose gel (5 samples (typical) are shown)

واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR): سپس با استفاده از روش PCR¹ توالی های مرتبط جهش در چندشکلی تک نوکلئوتیدی هدف مشخص شد. توالی پرایمرهای
 Forward: 5'_TAAAATGAATAAAGGTGGGGT_3
 Reverse: و 5'_TAAGAGTGGAAGGTTGGAGAA_3
 با سفارش به شرکت سیناژن آماده شد. برنامه تعیین شده برای PCR ژن NRF2 در جدول شماره دو آورده شده است (۲۱).

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
 پرتال جامع علوم انسانی

1. Polymerase Chain Reaction



جدول ۲- برنامه تعیین شده برای PCR ژن NRF2

Table 2- PCR Amplification of NRF2 Gene Program

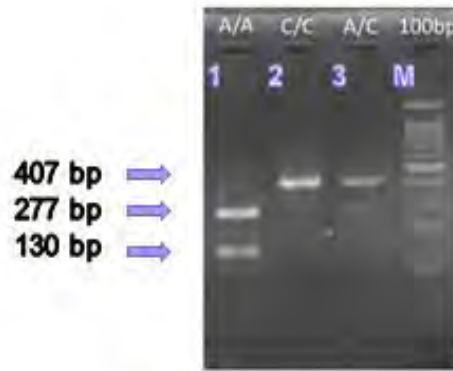
Primary Denaturation واسرشت مقدماتی	94 ° C	5 min	P 1
Denaturation واسرشت	94 ° C	30 sec	
Annealing اتصال	58 ° C	45 sec	P 235 Cycles
Extension طویل شدن	72 ° C	1 min	
Final Extension طویل شدن نهایی	72 ° C	7 min	P 3

تعیین ژنوتیپ A/C ژن NRF2: در نهایت، ژنوتیپ محصولات حاصل از PCR در آزمایشگاه ژنتیک با روش RFLP¹ و الکتروفورز با آنزیم MfeI تیمار و روی ژل آگارز^۲ یک درصد، اجرا شد و با استفاده از دستگاه Gel doc (محصول شرکت یاس ژن کوثر) عکس برداری شد. در صورت وجود ژنوتیپ C/C تنها یک باند ۴۰۷ نوکلئوتیدی، در صورت وجود ژنوتیپ A/A دو باند ۲۷۷ و ۱۳۰ نوکلئوتیدی و در صورت وجود ژنوتیپ A/C سه باند ۱۳۰، ۲۷۷ و ۴۰۷ نوکلئوتیدی در ژل مشاهده شدند (شکل شماره دو).

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
برتال جامع علوم انسانی

1. Restriction Fragment Length Polymorphisms
2. Agarose





شکل ۲- بررسی تنوع ژنتیکی در ژن NRF2
 چاهک ۱ نشان دهنده ژنوتیپ AA، چاهک ۲ نشان دهنده ژنوتیپ CC، چاهک ۳ نشان دهنده ژنوتیپ AC و
 لدر M (100 bp) هستند.

Figure 2- Investigation of genetic diversity in NRF2 gene
Lane 1: AA genotype, Lane 2: CC genotype, Lane 3: AC and M genotypes are DNA
100 bp ladder

برای تجزیه و تحلیل داده‌های آماری از آمارهای توصیفی و استنباطی به کمک نرم افزار اسپس^۱ نسخه ۲۱ استفاده گردید. روش‌های آماری توصیفی شامل توزیع فراوانی، درصد فراوانی، میانگین و انحراف معیار بود. از روش‌های آماری استنباطی آنوا برای مقایسه میانگین سن، قد و وزن سه گروه، از آزمون کای اسکوئر^۲ به منظور بررسی توزیع یکنواخت ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مطالعه‌شده و از آزمون رگرسیون لجستیک برای بررسی ارتباط نخبه‌بودن با ژنوتیپ‌های مختلف استفاده شد. سطح معناداری نیز $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، اختلاف معنادار درون گروهی در توزیع ژنوتیپ‌های مختلف مارکر rs1۲۵۹۴۹۵۶ ژن NRF2 در گروه‌های آماتور ($\chi^2=8.667$, $P=0.013$) و غیرورزشکاران وجود داشت ($\chi^2=6.494$, $P=0.039$)؛ یعنی ژنوتیپ AC در گروه‌های آماتور و غیرورزشکار به ترتیب ۴۸/۷ درصد و

1. SPSS
2. Pearson Chi-Square



۴۴/۴ درصد به دست آمد که در مقایسه با نوع دیگر ژنوتیپها به طور معناداری بیشتر بود؛ در حالی که این توزیع بین گروهها تفاوت معناداری را نشان نداد ($\chi^2=3.121$, $P=0.528$) (جدول شماره سه).

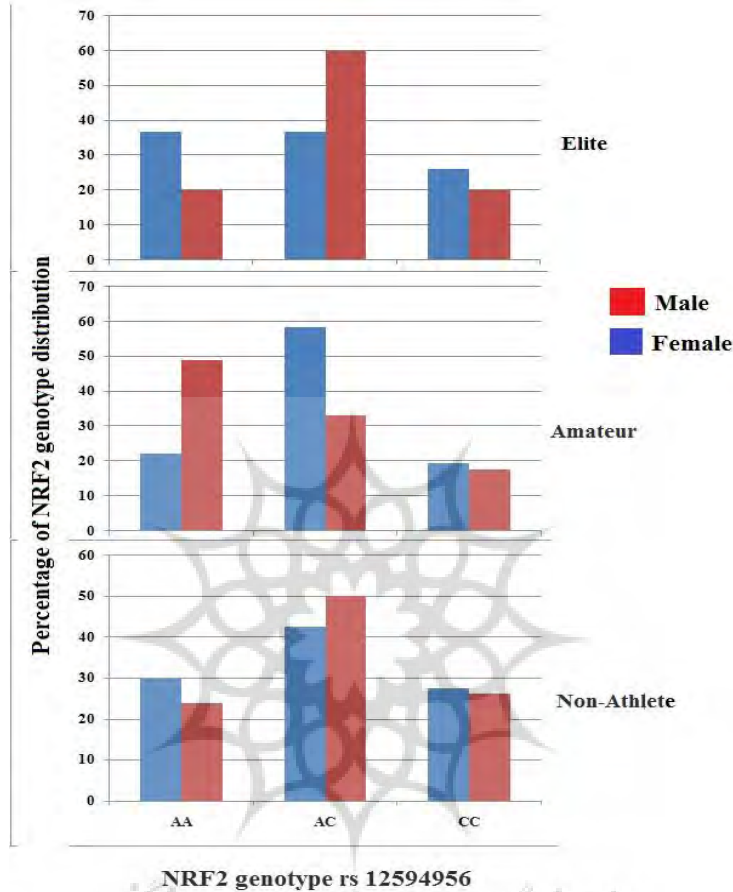
جدول ۳- چگونگی توزیع ژنوتیپهای مختلف مارکر rs12594956 در جمعیت‌های نخبه، آماتور و غیرورزشکاران

Table 3. Distribution of different genotypes of rs12594956 marker in elite, amateur and non-athlete populations

Groups گروه‌ها	NRF2 A/C% genotypes			اختلاف درون گروهی Intragroup differences	اختلاف بین گروهی Intergroup differences
	AA	AC	CC		
Elite نخبه	28.2	48.7	23.07	($P=0.116$, $\chi^2=4.308$)	
Amateur آماتور	37.03	44.4	18.51	($P=0.013$, $\chi^2=8.667$)	($P=0.528$, $\chi^2=3.121$)
Non-Athlete غیرورزشکار	27	46	27	($P=0.039$, $\chi^2=6.494$)	

شکل شماره سه، چگونگی این توزیع ژنوتیپ A/C ژن NRF2 را در گروه‌های جنسیتی مرد و زن (و مجموع) در سه گروه نخبه، آماتور و غیر ورزشکاران نشان می‌دهد. نتایج، الگوی متفاوت پلی مورفیسیم‌های AA (فراوانی بیشتر) و CC (فراوانی کمتر) را در گروه آماتور در مقایسه با دو گروه دیگر نشان می‌دهد که البته معنادار نبود ($P>0.05$).





شکل ۳- چگونگی توزیع ژنوتیپ‌های مختلف مارکر rs12594956 ژن NRF2 A/C در جمعیت غیرورزشکار، آماتور و نخبه در گروه‌های مرد و زن

Figure 3. The distribution of different genotypes of the 12594956rs marker of the NRF2 A/C gene in the non-athlete, amateur and elite population in male and female groups

برای بررسی ارتباط نوع ژنوتیپ rs12594956 با وضعیت نخبگی در گروه‌های بررسی شده، از آزمون مولتی نومینال رگرسیون لوجستیک^۱ استفاده شد. براساس جدول شماره چهار، در ورزشکاران

1. Multinomial Logistic Regression



نخبه در مقایسه با غیرورزشکاران، فراوانی ژنوتیپ NRF2: AA در مقایسه با ژنوتیپ NRF2: CC با ضریب ۱/۰۴۹ برابر، بیشتر و فراوانی NRF2: AC در مقایسه با NRF2: CC با ضریب ۰/۹۱۸ برابر، کمتر بود. در مورد ورزشکاران آماتور، فراوانی ژنوتیپ NRF2: AA در مقایسه با ژنوتیپ NRF2: CC با ضریب ۱/۷۰۱ برابر در غیرورزشکاران و فراوانی ژنوتیپ NRF2: AC در مقایسه با NRF2: CC با ضریب ۱/۳۱۲ برابر در ورزشکاران آماتور در مقایسه با غیرورزشکاران، بیشتر بود.

جدول ۴- نتایج آزمون مولتی نومینال رگرسیون لجستیک مربوط به rs12594956

Table 4- The results of multinomial logistic regression test related to 12594956 rs

Condition ^a	Odd Ratio	95% Confidence Interval for Exp(B)		
		Lower Bound	Upper Bound	
Elite نخبه	NRF2 gene= AA	1.049	0.487	2.257
	NRF2 gene= AC	0.918	0.460	1.832
	NRF2 gene= CC	1.000	.	.
Amateur آماتور	NRF2 gene= AA	1.701	0.898	3.224
	NRF2 gene= AC	1.312	0.730	2.360
	NRF2 gene= CC	1.000	.	.

a. The reference category is: Non-Athlete

بحث و نتیجه گیری

در بررسی چگونگی توزیع ژنوتیپ A/C ژن NRF2 rs12594956 در جمعیت غیرورزشکار، آماتور و نخبه مشخص شد که فراوانی ژنوتیپها در گروه‌های مختلف به صورت یکنواخت توزیع شد و اختلاف معناداری بین گروه‌ها از لحاظ پراکندگی ژنوتیپها وجود نداشت. در هر سه گروه، ژنوتیپهای AC، AA و CC به ترتیب بیشترین شیوع را داشتند. بررسی رگرسیون نیز نشان داد، فزونی ژنوتیپ AA در افراد نخبه در مقایسه با ژنوتیپ CC در غیرورزشکاران و کمبود فراوانی ژنوتیپ AC در ورزشکاران نخبه در مقایسه با CC در غیرورزشکاران وجود داشت. در مورد ورزشکاران آماتور نیز فزونی فراوانی ژنوتیپهای AA و AC در مقایسه با ژنوتیپ CC در غیرورزشکاران وجود داشت.

اینون^۱ و همکاران در مطالعه‌ای تعقیبی نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ AA در چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی A/C rs12594956 به‌طور معناداری در ۸۹ ورزشکار استقامتی اسپانیایی رده جهانی

1. Eynon



در مقایسه با ۱۱۰ فرد گروه کنترل، بیشتر بود (۲۱). همچنین ای نون و همکاران در دو مطالعه دیگر بر ۱۵۵ ورزشکار و ۲۴۰ غیرورزشکار، توزیع چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی A/C GABPB1 rs1۲۵۹۴۹۵۶ را تحلیل کردند. نتایج نشان داد، تناوب‌های ژنوتیپ‌های AA rs1۲۵۹۴۹۵۶ GABPB1، به‌طور معناداری در ورزشکاران استقامتی ($n=74$) از غیرورزشکاران ($n=81$) بیشتر بود (۲۲، ۱۸). این نتایج با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا نیست. یکی از دلایل ناهم‌سوبودن نتایج تحقیق حاضر با مطالعات ای‌نون و همکاران (۲۲، ۱۸) احتمالاً می‌تواند متفاوت بودن ماهیت رشته ورزشی و منطقه جغرافیایی باشد. علاوه بر این، کارلوسکا^۱ و همکاران نشان دادند، نسبت ژنوتیپ AC و فراوانی آلل C به‌طور معناداری در ۵۵ مرد پارونز لهستانی در مقایسه با ۱۳۰ غیرورزشکار، بیشتر بود. آن‌ها ارتباط بین چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی A/C rs7۱۸۱۸۶۶ و وضعیت ورزشکار استقامتی را تأیید کردند (۱۹) کیلر^۲ و همکاران نیز به آنالیز ژن GABPβ بر ۱۶۴ رزمی کار پرداختند. نتایج حاکی از ارتباط مستقیم این ژن با عملکرد ورزشی رزمی کاران بود. آلل‌های مینور G (rs7181866) و T (rs8031031) در ورزشکاران، به‌ویژه در ورزشکاران نخبه، زیاد گزارش شد (۲۳) که با نتایج تحقیق حاضر هم‌سوست. در گروه آماتور، شیوع ژنوتیپ AC بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. این نتیجه احتمالاً نشان می‌دهد که کاراته‌کاران آماتور بیان کمتری از ژن NRF2 مرتبط با عملکرد هوازی دارند، اما نتایج این تحقیق در گروه نخبه، تفاوت معناداری را بین سه نوع ژنوتیپ نشان نداد. از طرفی نتایج بررسی رگرسیون، فزونی ژنوتیپ AA را در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در افراد نخبه در مقایسه با غیرورزشکاران نشان داد. این یافته احتمالاً نشان می‌دهد که در افراد نخبه توان هوازی از اهمیت بیشتری برخوردار است و شاید یکی از دلایل معنادارنشدن توزیع ژنوتیپ‌ها در آزمون کای‌اسکوئر در این گروه، تعداد کم آزمودنی‌ها باشد؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود، برای رسیدن به نتایج دقیق‌تر آزمودنی‌های بیشتری بررسی شوند. همچنین پیشنهاد می‌شود، ژن‌های دیگری نیز در کاراته در ارتباط با توان هوازی مطالعه شود.

پیام مقاله

نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده فزونی ژنوتیپ‌های مرتبط با عملکرد پایین‌تر ژن NRF2 برای سیستم تأمین انرژی هوازی است؛ بنابراین با توجه به اهمیت فاکتورهای مختلف آمادگی بدنی و سیستم‌های

1. Karłowska
2. Guilherme



تأمین انرژی مختلف، نیاز است که ژنومیک کاراته به صورت پلی ژنتیک و نمره کلی ژنتیکی (TGS) بررسی شود.

تشکر و قدردانی

از همه کاراته کاران نخبه و آماتور و سایر شرکت کنندگان در تحقیق، هیئت کاراته استان اصفهان و استاد علی کمالی، مربی ارزنده تیم ملی، سیاستگزاری می کنیم. این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی با شماره ۴۱۱۴ در دانشگاه صنعتی اصفهان است.

منابع

- Babic M, Kezic A, Cular D. The future of genetic testing in taekwondo: opportunities and challenges. *Physical Activity Review*; 2023;10(2):21-33.
- Khaledi N, Milani R, Arjmand S. Frequency of single nucleotide polymorphisms in athletic performance and athletic talent responsible genes of Iranian population and elite athletes. *Bulletin of Application Sport Physiology*. 2014;21:101-16. (In Persian).
- Salehi M, Ahmadpour A, Mohaddes M, Evaluation of actn3 polymorphism in Iranian elite athletes. *Sport Physiology (Research on Sport Sciene)*. 2012;4(13):13-21. (In Persian).
- MacArthur DG, North KN. Genes and human elite athletic performance. *Human Genetics*. 2005;116(5):331-9.
- Ahmetov II, Rogozkin VA. Genes, athlete status and training—an overview. *Med Sport Sci*. 2009;54(4):43-71.
- Ahmetov II, Fedotovskaya ON. Current progress in sports genomics. *Advances in Clinical Chemistry*. 2015;70:247-314.
- Hassan EA, Ali BM, Ali MM. Relationship Between maximum-intensity training with the gene expression of the female players of the Egypt national karate team. *Training*. 2011;1(13):13-7.
- Rankinen, T, An P Rice, T, Sun G, Chagnon. C, Gagnon J, Bouchard C. Genomic scan for exercise blood pressure in the health, risk factors, exercise training and genetics (HERITAGE) family study. *Hypertension*. 2001;38(1):30-7.
- Brewster UC, Perazella MA. The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: effects on kidney disease. *Am J Med*. 2004;116(3):263-72.
- Batavani MR, Ghaedi K. Comparison of total genotype score (TGS) of power/strength responsible ACE, HIF1 α and IGF1 polymorphisms of elite, amateur karate-kas vs. non-athletes. *Sport Physiology*. 2022;14(53):149-76. (In Persian).
- Imamura H, Yoshimura Y, Uchida K, Nishimura S, Nakazaw AT. Maximal oxygen uptake, body composition and strength of highly competitive and novice karate practitioners. *Journal of Physiological Anthropologies*. 1998;17(5):215-8.



18. Boroushak N, Anbarian M. A comparison of time to peak torque and acceleration time in elite karate athletes. *Journal of Paramedical Science and Rehabilitation*.
19. Nunan D. Development of a sports specific aerobic capacity test for karate - a pilot study. *J Sports Sci Med*. 2006;1(5):47-53.
20. Doria C, Veicsteinas A, Limonta E, Maggioni MA, Aschieri P, Eusebi F, et al. Energetics of karate (kata and kumite techniques) in top-level athletes. *European Journal of Applied Physiology*.
21. Cid-Calfucura I, Herrera-Valenzuela T, Franchini E, Falco C, Alvia-Moscoso J, Pardo-Tamayo C, et al. Effects of strength training on physical fitness of olympic combat sports athletes: a systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2023;20(4):16-35. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36834211/>
22. Nikoukheslat S, Vakili J, Fatollahi S. Effect of one month of common trainings on physical fitness, body composition and performance of kata international champions. *Sport Physiology*. 2019;40(10):33-50. (In Persian). https://spj.ssric.ac.ir/article_1364.html
23. Boraita A, de la Rosa A, Heras M, Ana I, Canda A, Rabadán M, and Hernández M. Cardiovascular adaptation, functional capacity, and angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism in elite athletes. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. 2010;63(7):810-19. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20609315/>
24. Eynon N, Ruiz JR, Bishop DJ, Santiago C, Gómez-Gallego F, Lucia A, et al. The rs12594956 polymorphism in the NRF-2 gene is associated with top-level Spanish athlete's performance status. *Journal of Science and Medicine in Sport*. 2013;16(2):135-9.
25. Maciejewska-Karłowska A, Leońska-Duniec A, Cieżczyk P, Sawczuk M, Eider J, Ficek K, et al. The GABPB1 gene A/G polymorphism in Polish rowers. *Journal of Human Kinetics*. 2012;31:115-20.
26. Babić M, Kezić A, Cular D. The future of genetic testing in taekwondo: opportunities and challenges. *Physical Activity Review*. 2023;10(2):21-33.
27. Eynon N, Sagiv M, Meckel Y, Duarte JA, Alves AJ, Yamin C, et al. NRF2 intron 3 A/G polymorphism is associated with endurance athletes' status. *Journal of Applied Physiology*. 2010;107(1):76-9.
28. Eynon N, Sagiv M, Meckel Y, Duarte JA, Alves AJ, Yamin CJ. NRF2 intron 3 A/G polymorphism is associated with endurance athletes' status. *Journal of Applied Physiology*. 2009;107(1):76-9.
29. Guilherme JPL, Souza-Junior TP, Lancha Junior AH. Association study of performance-related polymorphisms in Brazilian combat-sport athletes highlights variants in the GABPB1 gene. *Physiol Genomics*. 2021;53(2):47-50.



استناد به مقاله

باتوانی محمدرضا، مرندی سیدمحمد، بروشک ندا، قائدی کامران.
مقایسه پلی مورفیزم ژن rs NRF2۱۲۵۹۴۹۵۶ در کاراته کاران نخبه، آماتور و
غیرورزشکار. فیزیولوژی ورزشی. بهار ۱۴۰۲؛ ۱۵(۵۷): ۶۷-۸۶.
شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2023.14703.2250

M. R. Batavani, Marandi, S. M. N. Boroushak, K. Ghaedi Comparison of
NRF2 gene Polymorphism rs12594956 in Elite and Amateur Karate-Kas vs.
Non-Athletes. Spring 2023; 15(57): 67-86. (In Persian).
Doi: 10.22089/SPJ.2023.14703.2250

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

