حرکت
شمارهٔ ۲۵ ـ ص ص : ۹۷ ـ ۸۳
تاریخ دریافت : ۸۳/۱۲/۲۵
تاریخ تصویب: ۸۴/۰۲/۱۷

رابطهٔ لاکتات و حذف mtDNA لکوسیت‌های خون انسان پس از شرکت در یک جلسه فعالیت هوازی وامانده‌ساز

دکتر بهمن میرزایی [1] ـ دکتر فاطمه سلامی ـ دکتر فرهاد رحمانی‌نیا ـ دکتر افشار جعفری ـ دکتر مسعود هوشمند ـ مهدی شفا
عضو هیأت علمی دانشگاه گیلان - استادیار دانشگاه تربیت معلم - دانشیار دانشگاه گیلان - استادیار دانشگاه تبریز - استادیار پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و زیست فناوری ایران - پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و زیست فناوری ایران

چکیده

هدف از این مطالعه، تعیین رابطهٔ لاکتات و حذف mtDNA لکوسیت‌های خون انسان پس از شرکت‌در یک جلسه فعالیت هوازی وامانده‌ساز است. بدین منظور، ۴۰ دانشجوی غیرورزشکار (سن ۱/۵±۲۱/۳ سال ،وزن ۱۴/۴±۷۴/۲ کیلوگرم، درصد چربی ۶/۱±۱۷/۹) که همگی سالم و غیرسیگاری بودند، به طور داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. باتوجه به دامنهٔ سنی و شرایط طبیعی آزمودنی‌ها، احتمال وجود جهش‌های mtDNA به صورت حذف معمولی 5kb در حالت استراحت ضعیف بود. با این وجود، به‌منظور اطمینان کامل از عدم وجود چنین جهشی، قبل از شروع فعالیت وامانده‌ساز نیز تمامی آزمودنی‌ها از این نظر مورد بررسی قرار گرفتند تا در صورت وجود جهش احتمالی mtDNA در بعضی از نمونه‌های خونی قبل از انجام فعالیت وامانده‌ساز، آزمودنی‌های مذکور از تحقیق خارج شوند. سپس فعالیت فزایندهٔ وامانده‌ساز اجرا شد. بلافاصله بعد از فعالیت مذکور از آزمودنی‌ها خونگیری به عمل آمد تا پس از استخراج DNA میتوکندری لکوسیت‌های خون، حذف 5kb ژنوم میتوکندری‌ها با تکنیک‌های مولکولی Multiplex PCR مورد بررسی قرار گیرد. همچنین لاکتات خون، به عنوان یکی از شاخص‌های استرس اکسایشی، قبل و بعد از فعالیت اندازه‌گیری شد. پس از بررسی نرمالیته، مقایسهٔ میانگین‌های پیش و پس آزمون لاکتات با آزمون t و متغیرهای غیر پارامتریک، با آزمون خی دو، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج آزمون خی دو نشان داد که فعالیت شدید هوازی تا حد واماندگی موجب بروز جهش ژنی مذکور در افراد غیرورزشکار می‌شود ($P< ۰/۰۱$).

واژه‌های کلیدی

ژنوم میتوکندریایی، استرس اکسایشی، حذف معمولی، فعالیت هوازی وامانده‌ساز، لاکتات خون.

1- Email : bmirzaei2000@yahoo.com

مقدمه

ژنوم میتوکندریایی (*mtDNA*) انسان، یک مولکول حلقوی دو رشته‌ای با ۱۶۵۶۹ جفت باز آلی[1] (*bp*) است. براساس یافته‌های موجود، حدود ۱۰ درصد از پروتئین‌های اصلی درگیر در روند فسفریلاسیون اکسایشی به طور اختصاصی به دستور این مولکول وبا همکاری ژنوم هسته‌ای ساخته می‌شوند (۱). براساس نظریهٔ هارمن[2] (۱۹۵۶)، تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن[3] (*ROS*) در موجودات هوازی و تعامل این گونه‌ها و سایر بنیان‌های آزاد با برهم زدن تعادل اکسایشی / ضد اکسایشی سبب بروز تغییرات مهمی در بیشتر بیومولکول‌های بدن این جانداران از جمله *DNA* هسته‌ای (*nDNA*) و میتوکندریایی (*mtDNA*) می‌شود (۵، ۶، ۹، ۱۱، ۲۰، ۲۶، ۳۳، ۳۴ و ۳۶). براساس مطالعات گروه لینانس[4] (۱۹۸۹)، تجمع جهش‌های *mtDNA* ناشی از افزایش تولید *ROS* می‌تواند یکی از علل بیماری‌های استحاله‌ای و بروز فرایند پیری باشد (۱۹). مصرف بیش از ۹۰ درصد اکسیژن سلولی در میتوکندری‌ها، ساز و کارهای ناکارامد ترمیمی در ژنوم میتوکندری و مجاورت غشای میتوکندری‌ها با *ROS*، موجب شده تا ژنوم میتوکندری ۱۰ برابر بیشتر از ژنوم هسته‌ای (*nDNA*) در معرض آسیب‌های اکسایشی قرارگیرد (۸، ۱۰ و ۲۷). در همین مورد، محققان طی دو دههٔ گذشته تأثیر فعالیت‌های بدنی شدید و مصرف اکسیژن سلولی را در بروز این جهش‌ها مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که تشکیل گونه‌های واکنشی اکسیژن نظیر بنیان‌های آزاد سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، و هیدروکسیل در حین انجام فعالیت‌های بدنی شدید نسبت به هنگام استراحت به دلیل افزایش زیاد در مصرف اکسیژن بسیار بیشتر است (۲۳).

طی دو دههٔ گذشته، دانشمندان برای برآورد میزان آسیب‌های ناشی از ورزش شدید بر سلول و بویژه *DNA* آن، مطالعات گسترده‌ای را از طریق اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسایشی آغاز کرده‌اند. بدین منظور، شاخص‌هایی نظیر *8-OHdG*[5] ادرار، مالون دی آلدئید (*MDA*)، پروتئین کربونیل شده (*CP*)، لاکتات دهیدروژناز (*LDH*) و کراتین کیناز (*CK*) خون

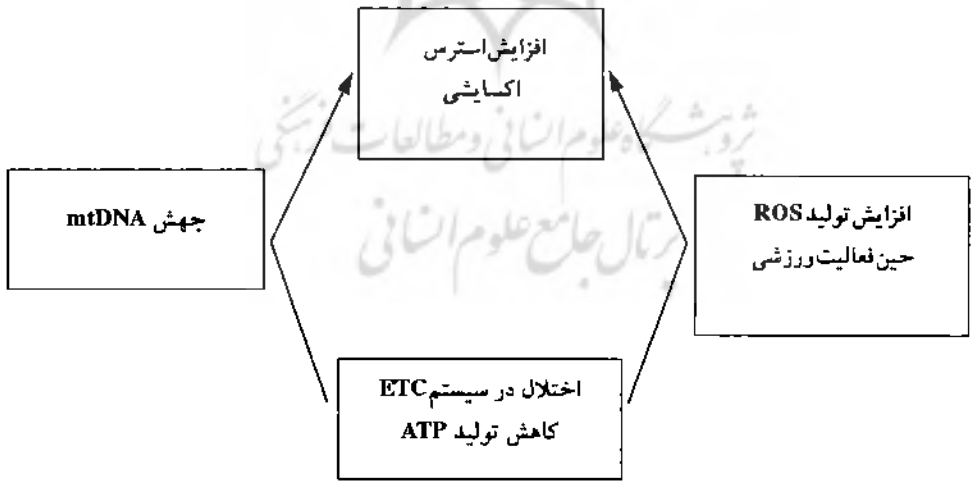
1- Base Pair
2- Harmman
3- Reactive Oxygen Species
4- Linnance et al
5- 8-hydroxydeoxyguanosine

مورد بررسی قرار گرفتند. اما از آنجاکه مطالعات مربوط به *mtDNA* و ورزش هنوز در ابتدای راه است، تاکنون هیچ مطالعه‌ای رابطهٔ میان جهش‌های *mtDNA* و لاکتات خون را مورد بررسی قرار نداده است.

موراکامی[1] (۱۹۹۵) و ایوائی[2] (۲۰۰۳) نشان دادند که افزایش قابل توجه مصرف اکسیژن میتوکندریایی در هنگام ورزش می‌تواند به‌علت تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن موجب آسیب *mtDNA* در شرایط استرس اکسایشی شود (۱۲ و ۲۵). این مسئله موجب بروز اختلال در روند تولید انرژی در مسیر فسفریلاسیون اکسایشی می‌شود. از طرفی، کاهش مداوم تأمین انرژی بر عملکرد سلول آسیب وارد کرده و موجب پیری زودرس و افزایش بروز بیماری‌های مختلف می‌شود (۹، ۲۰، ۳۲ و ۳۶). به علاوه، مطالعهٔ میدانی[3] و همکارانش (۱۹۹۳) حاکی است تولید بنیان‌های آزاد در عضلات اسکلتی حین انجام فعالیت‌های بدنی نسبت به حالت استراحت بسیار بیشتر است (۲۳). رزنیک و همکارانش[4] (۲۰۰۰) نیز اشاره کردند که فعالیت‌های بدنی یکی از منابع اصلی تولید بنیان‌های آزاد و استرس اکسایشی است (۲۹). ساکایی و همکارانش[5] (۱۹۹۹) برای اولین بار دریافتند که یک وهله فعالیت هوازی شدید می‌تواند در بروز جهش *mtDNA* عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی دخالت داشته باشد. آنها همچنین عنوان کردند که در مورد آسیب‌های اکسایشی *mtDNA* باید ویژگی‌های تارهای عضلانی را نیز در نظر گرفت (۳۱). گروه تحقیقاتی ایوائی (۲۰۰۳) با بررسی *mtDNA* گلبول‌های سفید پنج زن جوان سالم دریافتند که ۳۰ دقیقه دوچرخه سواری با شدت ۶۰ – ۵۰ وات و با سرعت ۶۰*rpm* به مدت ۳ روز متوالی موجب بروز حذف معمولی[6] ۴۹۷۷ جفت بازی در *mtDNA* لکوسیت‌های خون آزمودنی‌ها می‌گردد. حذف مشاهده‌شده پس از ۴ – ۲ روز ناپدید شد و سپس ۶ – ۵ روز بعد از آخرین وهله فعالیت مجدداً آشکار شد. آنها این پدیدهٔ ناپدید شدن حذف *mtDNA* و ظهور مجدد آن را روند پویا نامیدند (۱۲). با این حال، جعفری و همکارانش (۱۳۸۳) در مطالعات خود اشاره داشتند که یک وهله فعالیت بدنی هوازی با شدت‌های مختلف نمی‌تواند

1- Murakami et al
2- Iwai K. et al
3- Meydani et al
4- Reznick et al
5- Sakai et al
6- Common deletion

موجب بروز جهش *mtDNA* عضلهٔ نعلی موش‌های صحرایی گردد. به علاوه، تمرینات هوازی با شدت متوسط نیز در بروز جهش ژنوم میتوکندریایی عضلهٔ نعلی هیچ‌گونه دخالتی ندارد، اما تمرینات هوازی شدید می‌تواند سبب بروز حذف ۴/۶ کیلو بازی در *mtDNA* عضلهٔ نعلی شود (۱). همین گروه تحقیقاتی (۱۳۸۳) در مطالعه‌ای دیگر با بررسی تأثیر آزمون‌های هوازی (بالک) و بی‌هوازی (وینگیت) بر *mtDNA* لکوسیت‌های خون انسان دریافتند که همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های سرمی (*LDH, CK*)، جهش‌های میتوکندریایی نیز مشاهده می‌شود (۲). بنابراین احتمال دارد که فعالیت بدنی شدید، ورزشکاران را در معرض آسیب اکسایشی بنیان‌های آزاد قرار دهد (شکل ۱).



شکل ۱ - رابطهٔ میان ورزش هوازی شدید، تولید ROS، جهش mtDNA و اختلال در تولید انرژی

البته در مقابل، برخی دیگر از پژوهشگران، عدم افزایش یا حتی کاهش استرس اکسایشی متعاقب ورزش‌های هوازی را گزارش کرده‌اند (۳، ۴، ۷، ۲۱، ۲۲، ۳۰ و ۳۵). چنین نتایج متناقضی موجب شده تا اثر متقابل فعالیت‌های بدنی، ژن‌ها و بروز پیری زودرس محور مطالعات بسیاری از محققان قرار گیرد. در این میان، حذف معمولی ۴۹۷۷ جفت بازی ژنوم

میتوکندریایی، به دلیل ارتباط آن با افزایش سن در *mtDNA* بیشتر بافت‌های پیکری انسان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

باتوجه به نبود اطلاعات کافی دربارهٔ نقش استرسی اکسایشی ناشی از فعالیت‌های بدنی در بروز آسیب‌های *mtDNA* و همچنین اهمیت آن در بروز فرایند پیری و بیماری‌های استحاله‌ای، بر آن شدیم تا رابطهٔ بین تغییرات لاکتات و حذف ژنوم میتوکندریایی لکوسیت‌های خون انسان را پس از شرکت در فعالیت وامانده ساز مورد بررسی قرار دهیم.

روش تحقیق

مطالعهٔ حاضر به صورت نیمه تجربی یک گروهی پیش آزمون ـ پس آزمون انجام شد. در زمینهٔ اهداف تحقیق، ۴۰ دانشجوی مرد سالم و غیرورزشکار، پس از پر کردن برگه‌های مربوطه، به‌طور داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. هیچ‌یک از آزمودنی‌ها سابقهٔ مصرف سیگار، داروهای خاص و شرکت در فعالیت‌های ورزشی منظم نداشتند. میانگین سن، قد، وزن و تودهٔ بدون چربی بدن آزمودنی‌ها (با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری ترکیب بدن[1]) به ترتیب ۱/۵±۲۱/۳ سال، ۵/۴±۱۷۶ سانتی‌متر، ۱۴±۷۴/۲ کیلوگرم، ۹/۶±۶۰ کیلوگرم بود. هر یک از آزمودنی‌ها پس از گرم کردن اولیه، بر روی دوچرخهٔ کارسنج (دوچرخهٔ تنتوری[2] مدل *E433* ساخت کشور فنلاند) به مدت ۵ دقیقه با سرعت ثابت ۶۰ دور در دقیقه و بار کار اولیهٔ ۵۰ وات رکاب زدند. سپس با فشار فزاینده به ازای هر ۵ دقیقه، ۲۵ وات به بار کار اضافه شد. این روند تا توقف عمل رکاب زدن یا ناتوانی در حفظ سرعت ۶۰ دور در دقیقه ادامه یافت. برای استخراج *mtDNA* لکوسیت‌های خون آزمودنی‌های تحقیق (کیت *Diaton DNA Prep 100*) از خون سیاهرگی استفاده شد. یک ساعت قبل و بلافاصله پس از شرکت در فعالیت وامانده‌ساز، ۵ میلی‌لیتر خون سیاهرگی در وضعیت نشسته از آرنج راست هر یک از آزمودنی‌ها گرفته شد. به هر یک از نمونه‌های خونی تهیه شده ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نیم مولار *EDTA* اضافه شد و در شرایط کنترل شده در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شد.

1- Body composition analyzer

2- Tunturi

لاکتات خون نیز در قبل و بعد از فعالیت وامانده‌ساز به‌وسیلهٔ لانست و سوزن‌های مخصوص از طریق انگشت اشاره جمع‌آوری شد (دستگاه اندازه‌گیری لاکتات خون مدل لاکتات پرو ساخت شرکت *Arkray* کشور ژاپن). مخلوط واکنش *PCR* پس از انجام محاسبات مورد نیاز، در حجم نهایی ۲۵ میلی‌لیتر روی یخ در لوله‌های ۰/۵ میکرولیتری آماده شد. برای تهیهٔ هر یک از واکنش‌ها، ابتدا آب اضافه شد. سپس به ترتیب پرایمرها، *dNTP*، *DNA* الگو، *DMSO* و در نهایت آنزیم اضافه شد. واکنش *Multiplex* به صورت زیر آماده شد:

H_2O	PCR buffer10_x $+MgCl_2$	dNTP ۱۰mmol	DNA ۵۰ng/μl	$ONP_{۲۵}$ ۱۰pmol/μl	$ONP_{۷۴}$ ۱۰pmol/μl	$ONP_{۸۹}$ ۱۰pmol/μl	$ONP_{۸۶}$ ۱۰pmol/μl	Taq ۰/۵ u
۱۵/۸ μl	۲/۵ μl	۰/۷ μl	۱ μl	۱ μl	۱ μl	۱ μl	۱ μl	۱ μl

در واکنش *Multiplex* از پرایمرهای *ONP89* و *ONP86* به عنوان کنترل داخلی و پرایمرهای *ONP74* و *ONP25* برای تشخیص حذف معمولی *mtDNA* استفاده شد.

نام آغازگر	موقعیت نوکلئوتیدی	ژن	توالی آغازگر
ONP۸۶	LF ۵۳۶۱ - ۵۳۸۰	NDs	۵'-CCCTTACCACGCTACTCCTA-۳'
ONP۸۹	HB ۵۷۴۰ = ۵۷۶۱	OL	۵'-GGCGGGAGAAGTAGATTGAA-۳'
ONP۲۵	LF۹۱۶۱- ۸۱۸۰	CO_{II}	۵'-CTACGGTCAATGCTCTGAAA-۳'
ONP۷۴	HB ۱۳۶۲۰-۱۳۶۴۱	ND۵	۵'-GGTTGACCTGTTAGGGTGAG-۳'

برنامهٔ *Multiplex PCR* به صورت زیر انجام شد:

تعداد چرخه‌ها[1] ۳۵ دور: – واسرشتی[2] اولیه ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه؛ – واسرشتی ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه؛ – اتصال[3] ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱

1- Cycles
2- Denaturation
3- Annealing

دقیقه؛ – طویل شدن[1] ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه؛ – طویل شدن نهایی ۷۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه

پس از اتمام برنامهٔ *PCR* همهٔ نمونه‌ها روی ژل آگارز ۲ درصد برده شدند. در صورت وجود حذف معمولی دو باند در ستون مشاهده می‌شد. در غیر این صورت، فقط باند کنترل داخلی یعنی باند ۲۷۹*bp* دیده می‌شد.

داده‌های حاصل از این تحقیق ابتدا با استفاده از روش‌های آمار توصیفی تنظیم و مورد بررسی مقدماتی قرار گرفت. سپس با استفاده از آمار استنباطی ناپارامتریک (آزمون خی‌دو) و پارامتریک (*t* همبسته) بررسی شد. برای اندازه‌گیری رابطهٔ بین جهش *mtDNA* و افزایش لاکتات خون، از ضریب همبستگی کندال استفاده شد. تمام عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای *Spss* و *Excel* انجام شد.

نتایج و یافته‌های تحقیق

ویژگی‌های فردی و زمان رسیدن به واماندگی آزمودنی‌ها بر روی دوچرخهٔ کارسنج، در جدول ۱ نشان داده شده است. جدول ۲ میزان لاکتات خون را قبل و بعد از اعمال متغیر مستقل نشان می‌دهد.

جدول ۱ – ویژگی‌های فردی و زمان واماندگی آزمودنی‌ها

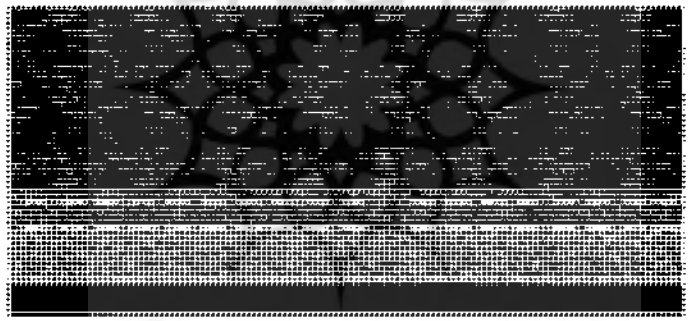
آزمودنی‌ها	سن (سال)	قد (cm)	وزن (kg)	درصد چربی	توده بدون چربی (kg)	BMI (kg/m2)	زمان‌واماندگی (دقیقه)
۴۰	۲۱/۳±۱/۵	۱۷۶±۵/۴	۷۴/۲±۱۴	۱۷/۹±۶/	۶۰±۹/۶	۲۳/۷±۴	۲۵/۴±۳/۸

جدول ۲ – میزان لاکتات خون در پیش و پس آزمون

آزمون	لاکتات خون
پیش آزمون	۱/۱۷±۰/۴
پس آزمون	۱۰/۸۷±۲/۶۱

1- Extension

بررسی‌های حاصل از *Multiplex PCR* نشان داد که جهش *mtDNA* به صورت حذف معمولی *5kb* در هیچ‌کدام از آزمودنی‌ها در قبل از شروع فعالیت وامانده‌ساز دیده نشد، اما جهش مذکور در ۹ مورد از آزمودنی‌های گروه تحقیق در بعد از فعالیت وامانده‌ساز مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲ - جهش mtDNA روی ژل آگارز ۲ درصد در ۴ مورد از آزمودنی‌ها بعد از فعالیت وامانده‌ساز

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

نتایج آزمون خی‌دو ($\chi^2 = ۱۲/۱$) نشان می‌دهد که جهش مشاهده‌شده در پس آزمون از نظر آماری معنی‌دار است ($P< ۰/۰۱$).

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون t همبسته ($t = ۱۵/۳۳$) نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار ($P< ۰/۰۰۱$) در مقادیر لاکتات خون در قبل و بعد از فعالیت واسانده‌ساز است. با وجود اینکه لاکتات خون در هر ۹ مورد جهش *mtDNA* آزمودنی‌ها در بعد از فعالیت وامانده‌ساز افزایش یافته، اما در موارد غیرجهش‌یافتهٔ *mtDNA* نیز افزایش معنی‌دار لاکتات مشاهده می‌شود. بنابراین تجزیه و تحلیل آماری حاصل از آزمون ضریب همبستگی کندال در هیچ یک از موارد زیر رابطهٔ معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۳). الف) جهش *mtDNA* و میزان لاکتات پیش آزمون؛ ب) جهش *mtDNA* و میزان لاکتات پس آزمون؛ج) جهش *mtDNA* و اختلاف پیش آزمون ـ پس آزمون لاکتات خون

جدول ۳ - ارتباط میان جهش mtDNA و لاکتات خون در ۳ مرحله

شاخص آماری / مراحل	tau	sig.	نتیجه
الف	-۰/۰۹۵	۰/۵۰۷	عدم وجود ارتباط
ب	-۰/۰۲۷	۰/۸۳	عدم وجود ارتباط
ج	-۰/۰۳۲	۰/۸۰۸	عدم وجود ارتباط

بحث و نتیجه‌گیری

در بسیاری از تحقیقات انجام‌شده تا سال ۲۰۰۰، استخراج *mtDNA* از طریق بیوپسی بافت‌های حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته است. باتوجه به دردناک و ناخوشایند بودن این روش‌ها در انسان، ون اسن[1] و همکارانش (۲۰۰۰) با نشان دادن وجود همبستگی قوی ($P<0/01$ و $r = 0/89$) بین *mtDNA* استخراج‌شده از بافت‌های بدن و میزان هتروپلاسمی لکوسیت‌ها (۱۲)، افق‌های تازه‌ای را برای انجام مطالعات مذکور در انسان نمایان ساختند. به‌طوری که طی سال‌های اخیر مطالعات انسانی بیشتری در مورد استرس اکسایشی ناشی از فعالیت شدید بدنی و آسیب‌های *mtDNA* صورت گرفته است. با وجود این هنوز پژوهش‌هایی که رابطهٔ *mtDNA* و استرس اکسایشی را مشخص می‌سازند، در ابتدای راه قرار دارند.

در تحقیق حاضر، نتایج حاصل از بررسی ژل آگارز ۲ درصد با استفاده از روش *Multiplex PCR*، عدم بروز جهش *mtDNA* را در تمامی آزمودنی‌ها، در حالت استراحت (قبل از انجام فعالیت وامانده‌ساز)، نشان می‌دهد. این یافته‌ها باتوجه به دامنهٔ سنی و شرایط طبیعی آزمودنی‌ها قابل پیش‌بینی بود، زیرا حذف *5kb* ژنوم میتوکندریایی از جمله جهش‌های شناخته‌شده‌ای است که با افزایش سن در بیشتر بافت‌های پیکری تجمع پیدا می‌کند (۲۸). با وجود این به‌منظور اطمینان کامل از عدم وجود چنین جهشی، قبل از شروع فعالیت وامانده‌ساز نیز تمامی آزمودنی‌ها از این نظر مورد بررسی قرار گرفتند تا در صورت وجود جهش احتمالی

1- Van Essen et al

mtDNA در برخی از نمونه‌های خونی، آزمودنی‌های مذکور از تحقیق خارج شوند.

فعالیت وامانده‌ساز بر روی دوچرخهٔ کارسنج موجب بروز جهش *mtDNA* در ۹ نفر از آزمودنی‌های تحقیق شد. این یافته با نتایج مطالعات ساکائی (۱۹۹۹)، ایوائی (۲۰۰۳) و جعفری (۱۳۸۳) مطابقت دارد. ساکائی و همکارانش (۱۹۹۹) گزارش کردند که یک وهله فعالیت هوازی شدید موجب جهش *mtDNA* عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی می‌شود. آنها نتیجه گرفتند که استرس اکسایشی ناشی از فعالیت بدنی شدید موجب بروز تغییر در *mtDNA* می‌شود. ایوائی و همکارانش (۲۰۰۳) گزارش کردند که ۳۰ دقیقه رکاب زدن بر روی دوچرخهٔ کارسنج با شدت ۶۰ - ۵۰ وات و با سرعت ۶۰*rpm* موجب بروز حذف عمومی در *mtDNA* لکوسیت‌های خون زنان غیرورزشکار می‌گردد. جعفری و همکارانش (۱۳۸۳) نیز گزارش کردند که آزمون‌های هوازی بالک و بی‌هوازی وینگیت در ۲ گروه از آزمودنی‌های مرد ۲۰-۱۸ سال موجب بروز جهش *mtDNA* لکوسیت‌های خون می‌شود. در مقابل، یافته‌های این مرحله از تحقیق با نتایج مطالعات جعفری (۱۳۸۲) همخوانی ندارد (۱، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷ و ۱۸). جعفری و همکارانش گزارش کردند که یک وهله فعالیت بدنی هوازی با شدت‌های مختلف نمی‌تواند سبب بروز حذف معمولی *mtDNA* در عضلهٔ اسکلتی موش‌های صحرایی گردد و این جهش فقط بعد از انجام یک دورهٔ ۳ ماهه (۵ روز در هفته) از تمرینات شدید بروز می‌کند. چند توضیح احتمالی برای این تناقض می‌توان ارائه کرد:

۱. پاسخ فیزیولوژیک بافت‌های انسان و حیوانات آزمایشگاهی به تمرینات بدنی تا حدودی متفاوت است؛ ۲. اثر استرس اکسایشی ناشی از ورزش بر خون و بافت متفاوت است. بنابراین ملاحظاتی را باید در تفاوت‌های بین بافت و لکوسیت‌های خون در نظر گرفت؛ و ۳. تفاوت‌های موجود در حجم و شدت ورزش نیز می‌تواند از دیگر دلایل این اختلافات باشند.

مقایسهٔ میانگین‌های لاکتات در پیش و پس آزمون، تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. با این حال رابطه‌ای بین جهش *mtDNA* و لاکتات خون در هیچ‌کدام از ۳ حالت پیش آزمون، پس آزمون و اختلاف پیش آزمون - پس آزمون مشاهده نشد. این موضوع نشان می‌دهد که برای نتیجه‌گیری کامل‌تر در این زمینه بهتر است سایر شاخص‌های استرس اکسایشی نظیر *8-OHdG, MDA, CP, LDH, CK* نیز بررسی شوند. همچنین اندازه‌گیری آنزیم‌های ضداکسایشی در

آزمودنی‌هایی که جهش *mtDNA* در آنان دیده نشده نیز می‌تواند توجیه مناسب‌تری را ارائه کند.

به طور کلی می‌توان گفت که یک وهله فعالیت بدنی هوازی تا حد واماندگی می‌تواند موجب حذف *5kb* در *mtDNA* افراد غیرورزشکار شود. از طرفی افزایش لاکتات خون نمی‌تواند عامل توجیه‌کنندهٔ این جهش باشد و احتمالاً سایر عوامل ناشناخته تأثیری مشابه یا حتی قوی‌تر از ورزش بر جهش *mtDNA* دارند.

منابع و مـــآخذ

۱ـ جعفری، افشار. "تأثیر تمرینات هوازی با شدت‌های مختلف بر حذف *mtDNA* عضلهٔ نعلی موش‌های صحرایی"، رسالهٔ دکترا، دانشگاه تهران. ۱۳۸۲.

۲ـ جعفری،ا. هوشمند، م. شفا، م. رستمی، م. دهقان، م. اوجاقی، ا. گودرزی، ا. "تأثیر آزمون‌های ورزشی هوازی و بی‌هوازی بر آنزیم‌های سرمی و حذف *mtDNA* لوکوسیت‌های خون انسان"، ششمین همایش تربیت بدنی و علوم ورزشی، اصفهان، ۱۳۸۳.

۳ـ حامدی نیا، محمدرضا. "اثر تمرینات هوازی، ویتامین ای و ورزش وامانده‌ساز بر استرس اکسایشی در دانشجویان ورزشکار"، رسالهٔ دکترا، دانشگاه تربیت معلم تهران. ۱۳۸۱.

4- Alessio, H.M., Hagerman, B., Uikerson, K. F., Anbrose, J., Erice R.R., and Wiley, R.L."Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise". Med. Sci. Sports. 3: 2000, PP: 1576-1581.

5- Ames, B.N., M.K. Shinegawa, and T.M. Hagen. "Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging". Proceeding of National academy of sciences of USA 1993, 90, PP: 7915-7922.

6- Beckman, K.B. and B.N. Ames. "The free radical theory of aging matures". Physiological reviews,1998, 78:PP: 547-557.

7- Child, R.B, Wilkinson, D.M., Fallowfield, J.L, and Donnelly, A.E. "Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdyde concentration

in response to a stimulated half - marathon run". Med. Sci. Sports Exerc 1998, 30: PP:1603-1607.

8- Clayton, D.A., J.N. Doda and E.C. Friedberg."The absence of a pyrimidine dimmer repair mechanism in mammalian mitochondria". Proceeding of the National Academy of Sciences USA 1974, 71,PP: 2777-2781.

9- Fleming, J.E., J. Miquel, S.F. Cottrell, et al."Is cell aging caused by respiration - dependent injury to the mitochondrial genome"? Gerontology 1982, 28, PP: 44-53.

10- Gross, N.J., G.S. Getz and M. Rabinowitz. "Apparent turnover of mitochondrial deoxyribonucleic acid and mitochondria phospholipids in the tissues of the rat". Journal of Biological Chemistry 1969, 244, PP: 1552- 1562.

11- Harman, D. "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry". Journal of Gerontology 1956, 11, PP: 298-300.

12- Iwai, K., M. Miyao, Y. Wadano, and Y. Iwamura. "Dynamic changes of deleted mitochondrial DNA in human leucocytes after endurance exercise". Eur J Appl Physiol 2003, 88, PP: 515-519.

13- Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshamand,."Effect of aerobic exercise training on mtDNA deletion in the skeletal muscle of trained and untrained Wistar Rats". British journal of sports medicine (in press). 2004.

14- Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshmand. "The effect of oxidative stress induced by aerobic exercise on mtDNA deletion in the soleus of trained and untrained Rats". Proceeding in 4th international congress of physical education and sports science, Iran.2004.

15- Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshmand,. "Relationship between heavy aerobic training and aging (by investigation of mtDNA common

deletion in skeletal muscles of rats)". Proceeding in 8th Iranian genetics congress Iran.2003.

16- Jafari, A. M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshmand. "The effect of intensive aerobic training on mtDNA common deletion in skeletal muscle". Proceeding in 1st scientific meeting of Asian society for mitochondrial research and medicine.2003.

17- Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshmand. "Effect of aerobic exercise training on mtDNA deletion in the skeletal muscle of trained and untrained Wistar Rats". Proceeding in 9th international Congress of the World Muscle Society.2004.

18- Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M.Houshmand. "Effect of heavy aerobic training on mitochondrial genome damage in skeletal muscle". Proceeding in 1st international congress of Caspian region university.2004.

19- Linance, A.W., S. Marzuki, T. Ozawa and M. Tanaka."Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to aging and degenerative disease". Lancet 1989, 8639, PP: 642 - 645.

20- Linnane, A.W., C. Zhang, A. Baumer, and P. Nagley,."Mitochondrial DNA mutation and the ageing process". In: bioenery and pharmacological intervention. Mutal Res 1992, 275, PP: 195-208.

21- MC Bride, J.M., Kramer, W.J., Triplett - Mcbride, T., and Sebastianeilli, W. "Effect of resistance exercise on free radical production". Med. Sci. Sports Exerc 1998, 30, PP: 67-72.

22- Meijer, E.P, Senden, J., Coolen, S.A. J, and Westerterp, K.R. "Effect of training on exercise - induced oxidative stress in the elderly as measured by free radical products of antipyrine". The journal of physiology. 2000, 528, P: 46.

23- Meydani, M., and W.J. Evans. "Free radicals, exercise and aging". In: free radicals aging, B.P. Yu, (ed.),1993, PP: 183-204. CRC Press, Boca raton, FL.

24- Mitsuyoshi, M. and T. Kaneko. "The chemistry of reactive oxygen species and related free radicals". In: free radicals in exercise and aging, Z. Radak, (ed.),2000, PP: 1-34.

25- Murakami, Y., Shimomura, N. Fujisuka. "Enzymatic and genetic adaptation of soleus muscle to physical training in rats". Am J Physiol 1994, 267, E388-E395.

26- Ozawa, T."Mechanism of somatic mitochondrial DNA mutations associated with age and diseases". Biochem Biophys Acta 1995, 1271, PP: 177-189.

27- Ozawa, T. "Genetic and functional changes in mitochondria associated with aging". Physiological Reviews 1997, 77, PP: 425-464.

28- Radak, Z. and S. Goto."The effects of exercise, aging and caloric restriction on protein oxidation and DNA damage in skeletal muscle. In: Oxidative stress in sketeal muscle, A.Z. Reznick, L. Packer, C.K. Sen, J.O. Holloszy, and M.J. Jackson (eds.), 1998, PP: 89-103. Birkhauser, Basel, Switzerland.

29- Reznick, A.Z, Carmeli, E. and Lavian, G. "The role of antioxidant nutrition in exercise and aging". In: Free radicals in exercise and aging, Radak, Z. (ed.),2000, PP: 73-117.

30- Sahlin, K., Cizinsky, S., Warholm, M., Hoberg, J. "Repetitive static muscle contractions in humans: a trigger of metabolic and oxidative stress"? Eur J Appl Physiol 1992, 64, PP: 228-36.

31- Sakai, Y., Y. Iwamura, J. Haysashi, N. Yamamoto, N. Ohkoshi and H.

Nagata. "Acute exercise caused mitochondrial DNA deletion in Rat skeletal muscle". Muscle Nerve 1999, 22, PP: 258-261.

32- Sawyer, D.T. "Oxygen Chemistry". Oxford University Press, New York.1991.

33- Sohal, R.S., and R. Weindruch. "Oxidative stress, caloric restriction, and aging". Science 1996, 273, PP: 59-63.

34- Stadtman, E.R. "Protein oxidation and aging". Science 1992, 257, PP: 1220-1224.

35- Subudhi, A.W., Davis, S.L., Kipp, R.W., and Askew, E.W,. "Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers". International Journal of sport nutrition and exercise metabolism.2001, 11: P: 32041.

36- Wallance, D.W. "Mitochondrial genetic". A paradigm for aging and degenerative disease? Science 1992, 256,PP: 628-632.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی