اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف مکمل ویتامین E بر حذف mtDNA لکوسیتهای خون انسان بعد از یک جلسه فعالیت وامانده ساز

بهمن میرزائي*[۱]، فاطمه سلامي**، فرهاد رحماني نیا***، افشار جعفري****، مسعود هوشمند*****، مهدي شفا******

* استادیار دانشکده تربیت بدني و علوم ورزشي دانشگاه گیلان
** استادیار دانشکده تربیت بدني و علوم ورزشي دانشگاه تربیت معلم تهران
*** دانشیار دانشکده تربیت بدني و علوم ورزشي دانشگاه گیلان
**** استادیار دانشکده تربیت بدني و علوم ورزشي دانشگاه تبریز
***** استادیار پژوهشگاه مهندسي ژنتیك و زیست فناوري ایران
****** کارشناس ارشد پژوهشگاه مهندسي ژنتیك و زیست فناوري ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۸٤/۱۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۵/۸

چکیده

هدف از این تحقیق تعیین اثر تعاملي هشت هفته تمرین هوازي و مصرف مکمل ویتامین E بر حذف mtDNA لکوسیتهاي خون انسان بعد از یك جلسه فعالیت وامانده ساز بود. براي این منظور، ٤۰ نفر از دانشجویان مرد غیر ورزشکار دانشگاه گیلان (سن ۱/۵ ±۲۱/۳ سال، وزن ۱٤/٤± ۷٤/۲ کیلو گرم، و درصد چربي بدن ٦/۱ ± ۱۷/۹) که همگي سالم و غیر سیگاري بودند، به طور داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. آزمودنیها به طور تصادفي در یکي از ٤ گروه ۱۰ نفرة (تمرینات هوازي + ویتامین E)، (تمرینات هوازي + دارونما)، (ویتامین E)، و (دارونما) قرار گرفتند. در ابتداي مطالعه، فعالیت هوازي وامانده ساز براي آزمودنیهاي ٤ گروه اجرا شد. در فعالیت مورد نظر، آزمودنیها پس از گرم کردن اولیه، بر روي چرخ کارسنج به مدت ۵ دقیقه با سرعت ثابت ٦۰ دور در دقیقه و بار کار اولیه ۵۰ وات شروع به رکاب زدن کردند. سپس، به طور فزاینده، به ازاي هر ۵ دقیقه، ۲۵ وات به بار کار اضافه شد. این روند تا هنگام توقف عمل رکاب زدن یا ناتواني در حفظ سرعت ٦۰ دور دقیقه ادامه یافت. یك ساعت قبل، و بلافاصله

۱. Bmirzaei۲۰۰۰@yahoo.com

بعد از فعاليت وامانده ساز، ۵ ميلي ليتر خون از سياهرگ دست راست آزمودنيها گرفته شد تا پس از استخراج DNA ميتوكندري لكوسيتهاي خون، حذف 5kb ژنوم ميتوكندري ها با استفاده از تكنيك Multiplex PCR مورد بررسي قرار گيرد. هشت هفته تمرين هوازي با شدت ۷۵-۵۰ درصد HRR (روش كارووننن) براي آزمودنيهاي گروه هاي ۱و۲ در نظر گرفته شد. گروه هاي ۳و٤ در هيچ فعاليت منظم ورزشي شركت نكردند. گروه هاي ۱و۳ ، روزانه ٤۰۰mg مكمل ويتامين E، و گروه هاي ۲و٤، از دارونما (كپسول هاي مشابه اما محتوي ساكاروز) استفاده كردند. طرح مصرف ويتامين E و دارو نما دو سويه كور بود. بعد از ۸ هفته اعمال متغيرهاي مستقل، مجددا فعاليت وامانده ساز و ۲ مرحله خون گيري، دقيقا همانند مرحله اول، به اجرا در آمد. نتايج حاصل از تجزيه و تحليل آماري آزمون علامتها و كروسكال واليس نشان داد كه يك جلسه فعاليت وامانده ساز مي تواند موجب بروز حذف معمولي mtDNA لكوسيتهاي خون گردد ($p< ۰/۰۵$). با اين وجود، هشت هفته تمرين هوازي به همراه دريافت روزانه ٤۰۰mg ويتامين E، يا هر كدام به تنهائي، تغيير معني داري در حذف mtDNA لكوسيتهاي خون افراد غير ورزشكار، بعد از يك جلسه فعاليت وامانده ساز، ايجاد نكرد. نتيجه اينكه بحث در مورد تاثير تمرين بدني بر تغييرات ژنوم ميتوكندري نياز به بررسيهاي بيشتري دارد.

واژه هاي كليدي: ژنوم ميتوكندريائي (**mtDNA**)، فشار اكسايشي، حذف معمولي (**5kb**)، فعاليت وامانده ساز، تمرينات هوازي.

مقدمه

گسترش روز افزون دامنة مطالعات درون سلولي موجب شده تا نظر بسياري از محققين به حيطة ژن و عوامل مؤثر بر آن معطوف شود. از طرفي ديگر، پيشرفت هاي قابل توجه فناوري مربوط به تكنيك هاي پيشرفته مولكولي اين امكان را فراهم مي كند تا تاثير ورزش و فعاليت هاي بدني، انواع رژيم هاي تمريني و تغذيه اي بر تغييرات احتمالي ژن ها بررسي شوند. روشهاي مختلفي براي تشخيص تغييرات احتمالي مذكور وجود دارد و تا كنون مطالعات گسترده اي نيز در اين خصوص انجام شده است. اما به غير از حيطة باليني و اتيولوژي ژنتيكي برخي از بيماري ها، اكثر تحقيقات انجام شده در اين زمينه به بررسي تغييرات و آسيب هاي DNA سلول در اثر فشار اكسايشي ناشي از فعاليتهاي شديد ورزشي پرداخته اند و اين در حالي است كه طي چند سال اخير، به جهت ارتباط ميان تغييرات ژنوم ميتوكندريها (mtDNA) با روند پيري و تغييرات استحاله اي برخي از بافتها، mtDNA به عنوان محور مطالعات بعضي از گروه هاي تحقيقاتي قرار گرفته است.

پاره اي از اين مطالعات حاكي از آن است كه تمرينات سنگين بدني با برهم زدن تعادل بين ميزان ROS[1] و سيستم دفاع ضد اكسايشي مي تواند در بروز آسيب اكسايشي mtDNA نقش داشته باشد(۸، ۲۵). از طرفي، نشان داده شده است كه فعاليت ورزشي دراز مدت باعث افزايش تنظيم عمل برخي آنزيمهاي ضد اكسايشي در بافتهاي فعال مي شود(۱۲)؛ اما هنوز اين موضوع به يقين ثابت نشده كه تقويت سيستم ضد اكسايشي اندوژنيك در اثر شركت در فعاليت هوازي سبک، در كاهش آسيبهاي اكسايشي ناشي از ورزش موثر است يا خير؟ با اين حال، بر اساس يافته هاي اخير به نظر مي رسد ويتامين E به عنوان يک ماده ضد اكسايشي غيرآنزيمي و خوراكي موجب مقابله با فشارهاي اكسايشي ناشي از افزايش ميزان ROS حين انجام فعاليت ورزشي مي شود؛ زيرا اين ويتامين از پراكسيده شدن بيش از حد غشاء ليپيدها و بروز اختلالات عملكردي ميتوكندريايي ناشي از فعاليتهاي ورزشي شديد جلوگيري مي كند. از طرفي نشان داده شده كه كاهش ويتامين E پس از فعاليت ورزشي احتمالا موجب افزايش توليد بنيانهاي آزاد در زنجيره انتقال الكترون (ETC) غشاء داخلي ميتوكندري مي گردد. بنابراين با توجه به اينكه عده زيادي از مردم درگير تمرينات هوازي اند و نتايج مطالعات انجام شده در اين زمينه نيز ضد و نقيض مي باشد، اين سئوال مطرح است كه آيا دريافت روزانه يك دوره مكمل ويتامين E به همراه شركت در تمرينات منظم هوازي مي تواند از جهش mtDNA پس از يك فعاليت وامانده ساز جلوگيري نمايد؟ ژنوم ميتوكندريائي انسان، كه از طريق سيتوپلاسم تخمک مادر به ارث مي رسد (٤)، يک DNA فوق كروموزومي و حلقوي دو رشته اي با ١٦٥٦٩ جفت باز آلي(bp) است و بر اساس يافته هاي موجود حدود ۱۰ درصد از آنزيمهاي اصلي درگير در روند فسفريلاسيون اكسايشي اختصاصاً به دستور mtDNA و با همكاري ژنوم هسته اي ساخته ميشوند(۱۰).

موراكامي و همكارانش[2](۱۹۹٤) تأثير تمرينات هوازي بر بيان ژن، ظرفيت اكسايشي و بيوژنز ميتوكندري عضله سولئوس موشهاي صحرايي را مورد بررسي قرار دادند. اين محققين گزارش كردند كه تغيير معني داري در تجمع mtDNA عضله سولئوس در دوره هاي تمريني ۳ و ٦ هفته اي مشاهده نگرديد (۲۰). براي اولين بار، فرضيه بروز جهش در mtDNA عضله اسكلتي متعاقب تمرين شديد، در سال ۱۹۹۹ توسط ساكايي و همكارانش[3] ارائه شد. اين گروه تحقيقاتي پس از بررسي يافته هاي به دست آمده از روش PCR، دريافتند كه يك جلسه فعاليت شديد بدني مي تواند باعث بروز حذفهاي بزرگ ميتوكندريايي (۷۰۵۲_{bp}) در عضله نعلي شود، اما در رابطه با آسيبهاي اكسايشي mtDNA مي بايست ويژگي تارهاي عضلاني را نيز در نظر گرفت (۲۷). هالر و همكارانش[4] (۲۰۰۲) با بررسي تأثير ١٤ هفته تمرينات هوازي بر ۱۰ فرد مبتلا به بيماريهاي ميتوكندريايي دريافتند كه ميزان جهش

۱. Reactive Oxygen species
۲. Murakami et al.
۳. Sakai et al.
٤. Haller et al.

mtDNA در شش نفر از آنها افزايش پيدا كرد (۳۰). ايوايي و همكارانش[1] (۲۰۰۳) با روش PCR تأثير يك دوره يك هفته اي تمرين هوازي (سه بار در هفته، با توان ٦۰-۵۰ وات، و سرعت ٦۰rpm برروي ارگومتر) را بر جهش ژنوم ميتوكندريايي ($mtDNA^{٤٩٧٧}$) لكوسيتهاي خون زنان جوان غير ورزشكار مورد بررسي قرار دادند. آنها بدون اشاره به عوامل مؤثر در ظهور و ناپديد شدن جهش mtDNA، از اين پديده به عنوان تغييرات پويا[2] نام بردند(۸). جعفري و همكارانش (۲۰۰۵) تأثير تمرينات هوازي با شدتهاي مختلف را بر حذف معمولي mtDNA عضله نعلي (سولئوس) موشهاي صحرايي مورد بررسي قرار دادند و نتيجه گرفتند كه تنها تمرينات هوازي شديد مي تواند سبب بروز حذف ٤/٦ كيلو بازي در mtDNA عضله سولئوس شود (۱۰).

جعفري و همكارانش (۱۳۸۳) در مطالعه اي ديگر گزارش كردند كه انجام آزمونهاي هوازي بالك و بي هوازي وينگيت موجب بروز جهش mtDNA لكوسيتهاي خون مردان جوان غير ورزشكار مي گردد. جهش مشاهده شده با افزايش فعاليت آنزيمهاي CK و LDH خون همخواني داشت (۱). پارايز و همكارانش[3] (۲۰۰۵) با بررسي تاثير ١٤ هفته تمرينات مقاومتي بر روي ۲۸ زن و مرد مسن (۵/۱ ± ٦۸/۵سال) دريافتند كه شركت در اين تمرينات علاوه بر افزايش قدرت و هايپرتروفي عضلاني، موجب كاهش فشار اكسايشي و افزايش فعاليت آنزيمهاي ضد اكسايشي مي شود. آنها همچنين نشان دادند كه انجام اين تمرينات نه تنها موجب بروز حذف ژنوم ميتوكندريائي افراد مسن نمي شود، بلكه مي تواند از ميزان آسيب به DNA سلول نيز بكاهد. اين نتيجه از طريق كاهش معني دار ميزان ۸-OHdG مشاهده شده در ادرار، به عنوان يكي از زيست شاخصهاي آسيب سلول، بدست آمد(۲۱).

بنابراين، با توجه به اينكه بر اساس منابع موجود، تا لحظه انجام اين تحقيق، هيچ پژوهشي اثر تعاملي يك ماده ضد اكسايشي (مانند ويتامين E) و تمرينات هوازي را بر آسيبهاي mtDNA لكوسيتهاي خون انسان مورد بررسي قرار نداده است، ضرورت انجام بررسيهاي بيشتر در اين حيطه احساس مي شود.

روش شناسی تحقیق

طرح تحقيق حاضر از نوع نيمه تجربي چند گروهي بود. تعداد ٤۰ نفر از دانشجويان مرد غير ورزشكار دانشگاه گيلان به طور داوطلبانه حاضر به همكاري در اين تحقيق شدند. اين عده پس از پر كردن فرمهاي مخصوص در چهار گروه مورد بررسي قرار گرفتند. تمامي آزمودنيها سالم و غير سيگاري بوده و حداقل سه ماه قبل از شروع تحقيق هيچ گونه مكمل ويتاميني را مصرف نكرده بودند. آزمودنيها به طور تصادفي در يكي از گروه هاي چهارگانه تحقيق جاي گرفتند (جدول ۱).

۱. Iwai et al.
۲. Dynamic changes
۳. Parise et al.

جدول ۱: گروه بندی آزمودنیها و انواع متغیرهای مستقل برای هر گروه

ردیف	گروه	نوع مداخله
یک	تمرین هوازی + ویتامین E N= ۱۰	تمرین هوازی + ویتامین E + ورزش وامانده ساز
دو	تمرین هوازی + دارونما N= ۱۰	تمرین هوازی + دارو نما + ورزش وامانده ساز
سه	ویتامین E N= ۱۰	ویتامین E + ورزش وامانده ساز
چهار	دارونما N= ۱۰	دارو نما + ورزش وامانده ساز

از هر آزمودني در چهار حالت (قبل و بعد از فعاليت وامانده ساز در ابتدا و انتهاي هشت هفته) پنج ميلي ليتر خون از سياهرگ ساعد گرفته شد. تمامي نمونه هاي خوني در شيشه هاي آغشته به محلول نيم مولار EDTA ريخته شده و تحت شرايط ويژه و دماي چهار درجه سانتي گراد به آزمايشگاه مركز ملي تحقيقات ژنتيك و بيوتكنولوژي تهران ارسال شدند.

براي رسيدن به حالت واماندگي، آزمودنيها بعد از گرم كردن اوليه به مدت پنج دقيقه با سرعت ثابت ٦٠ دور در دقيقه (rpm) و فشار كار ابتدايي ٥٠ وات شروع به ركاب زدن بر روي چرخ كارسنج نمودند. سپس، به ازاء هر پنج دقيقه، ٢٥ وات به فشار كار افزوده شد. آزمون هنگامي پايان مي يافت كه آزمودني ركاب زدن را متوقف مي كرد و يا اينكه نمي توانست سرعت ٦٠ دور در دقيقه را حفظ كند.

مدت دوره تمرين هشت هفته، و تعداد جلسات سه جلسه در هر هفته بود. در هر جلسه، ٣٠ دقيقه تمرين هوازي بر روي چرخ كارسنج با شدت ٧٥- ٥٠ درصد HRR (روش كاروونن) براي هر آزمودني در نظر گرفته شد. شدت كار بطور پلكاني ، در دو هفته اول ٥٠ درصد، هفته سوم ٥٥ درصد، هفته چهارم ٦٠ درصد، هفته پنجم ٦٥ درصد، هفته ششم ٧٠ درصد، و در دو هفته آخر ٧٥ درصد HRR براي هر آزمودني در گروه هاي يك و دو لحاظ گرديد.

گروه هاي سه و چهار در هيچ برنامه تمريني شركت نداشتند. آزمودني هاي گروه يک و سه در طول هشت هفته مطالعه، روزانه ٤٠٠ ميلي گرم مكمل ويتامين E ، و گروه چهار، از كپسولهاي مشابه، اما محتوي ساكاروز (به

عنوان دارونما)، استفاده نمودند. طرح مصرف ويتامين E و دارونما دو سويه كور[1] بود. در تمامي مراحل انجـام آزمون و تمرينات هوازي، دما و رطوبت آزمايشگاه به ترتيب حدوداً ۲۵-۲۰ درجه سـانتي گـراد و ۶۰-۵۰ درصـد حفظ شد. درصد چربي و توده بدون چربي بدن آزمودنيها توسط دستگاه آناليزر تركيب بـدن (InBody ۳,۰) محاسبه شد.

روش مولكولي مورد استفاده در تحقيق حاضر، Multiplex PCR بود و براي استخراج DNA ميتوكنـدري، از كل DNA سلول استفاده شد (كيت۱۰۰ Diaton DNA Prep).

واكنش Multiplex به صورت زير آماده شد:

H_2O	PCR $buffer_{10\ x}$ + $Mgcl_2$	dNTP ۱۰mmol	DNA ۵۰ng/µl	$ONP_{۲۵}$ ۱۰pmol/µl	$ONP_{۷۴}$ ۱۰pmol/µl	$ONP_{۸۹}$ ۱۰pmol/µl	$ONP_{۸۶}$ ۱۰pmol/µl	Taq ۰,۵u
۱۵,۸ µl	۲,۵ µl	۰,۷ µl	۱ µl	۱µl	۱µl	۱µl	۱ µl	۱ µl

در واكنش Multiplex از پرايمرهاي $ONP_{۸۹}$ و $ONP_{۸۶}$ به عنوان كنترل داخلي و پرايمرهاي $ONP_{۷۴}$ و $ONP_{۲۵}$ براي تشخيص حذف معمولي mtDNA استفاده شد.

جدول ۲: توالی آغازگر، ژن مربوطه، موقعیت نوکلئوتیدی و نام آغازگر

توالي آغازگر	ژن مربوطه	موقعيت نوكلئوتيدي	نام آغازگر
۵'-CCCTTACCACGCTACTCCTA-۳'	ND_2	۵۴۸۰–LF ۵۴۶۱	$ONP_{۸۶}$
۵'-GGCGGGAGAAGTAGATTGAA-۳'	OL	۵۷۲۱–HB ۵۷۴۰	$ONP_{۸۹}$
۵'-CTACGGTCAATGCTCTGAAA-۳'	CO_{II}	LF ۸۱۶۱ - ۸۱۸۰	$ONP_{۲۵}$
۵'-GGTTGACCTGTTAGGGTGAG-۳'	ND_5	HB ۱۳۶۴۰ - ۱۳۶۲۱	$ONP_{۷۴}$

پس از اتمام برنامه PCR همه نمونه ها روي ژل آگارز دو درصد برده شدند. در صورت وجود حذف معمولي دو باند در ستون مشاهده مي شد. در غير اين صورت تنها باند كنترل داخلي يعني باند ۲۷۹bp ديده مي شد.

داده هاي حاصل از اين تحقيق ابتدا با استفاده از آمار توصيفي، تنظيم و مورد بررسي مقدماتي قرار گرفت. سپس، با استفاده از آمار استنباطي پارامتريك (تحليل واريانس يكطرفه ANOVA) و آمـار اسـتنباطي غيرپارامتريـك (آزمون هاي كروسكال واليس، يو مان ويتني، و آزمون علامت ها) مورد تجزيه و تحليل قرار گرفت. تمام عمليات آماري با استفاده از نرم افزار هاي SPSS و Excel انجام شدند.

۱. Double-blind

یافته های تحقیق

نتایج اندازه گیریهاي مربوط به ویژگیهاي فردي، زمان واماندگي، تغییرات mtDNA، و تجزیه و تحلیل آماري آنها در جداول ۳ الي ۱۳ آورده شده اند.

جدول ۳: ویژگیهای فردی آزمودنی ها قبل از اعمال متغیرهای مستقل $(\overline{X} \pm SD)$ و سطوح معنی داری آن در آزمون F

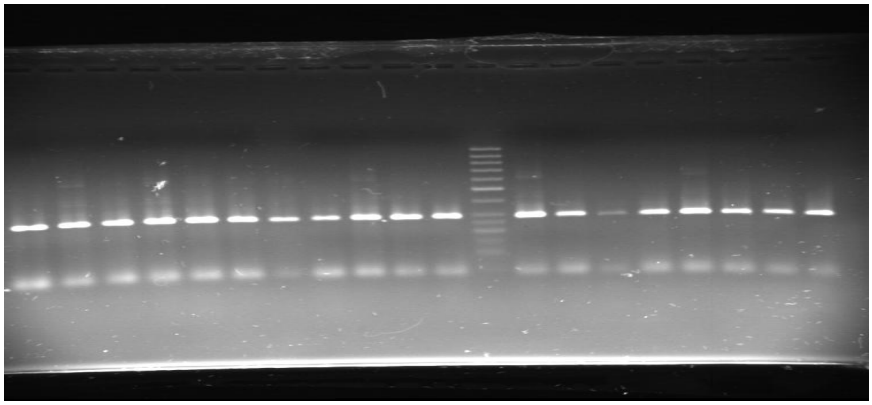
ویژگیها / گروه ها	سن (سال)	قد (Cm)	وزن (Kg)	چربی (درصد)	BMI (Kg/m^2)	LBM (Kg)	زمان واماندگی (دقیقه)
یک	۲۱/٦±۱/۹	۱۷٥/۹±٦/۳	۷۳/۸±۱۳/۷	۱۸/۷±٦/٤	۲۳/۹±٤/٤	٥۹/٤ ±۸/٥	۲٤/۷±۳/۱٥
دو	۲۰/۷±۱/٥	۱۷٤±٤/۷	٦۷/۷±۱۰	۱۷/٥±۷/۳٥	۲۳/۳±۳	٥٥/٤±٦/۷	۲٥±۳/۹
سه	۲۲/۱±۱/۲	۱۷۸±٥/٤	۷۷±۱٤	۱۷/۱±٤/۸	۲٤/۳±۳/۷	٦۳/٤±۱۰	۲٦/٦±٤/۸
چهار	۲۱±۱/۳	۱۷۸±٤/۷	۷۸/٥±۱۸/٥	۱۸/۲±٦/٤	۲٤/۲±٥/۳	٦۲/۹±۱۱/۷	۲٥/۲±٤
سطح معنی داری	۰/۱۷۹	۰/۲٦۳	۰/۳٥۹	۰/۹٤۱	۰/٦۹۰	۰/۲۲۱	۰/۷۱۹

جدول ٤: ویژگیهای فردی آزمودنی ها بعد از اعمال متغیرهای مستقل $(\overline{X} \pm SD)$ و سطوح معنی داری آن در آزمون F

ویژگیها / گروه ها	وزن (Kg)	چربی (درصد)	BMI (Kg/m^2)	LBM (Kg)	زمان واماندگی (دقیقه)
یک	۷۳/۹±۱۳/٦	۱۸/٥±٦/۲	۲۳/۹±٤/۳	٥۹/۷ ±۸/۷	۲۹/۷±٥/٤
دو	٦۸/٦±۹/۸	۱٦/۹±٥/۹	۲۲/٦±۲/۹	٥٦/۷±٦/٦	۳۰/٥±٤/۳
سه	۷۷±۱۳/۹	۱۷/۲±٤/۹	۲٤/۳±۳/٦	٦۳/٥±۱۰/۲	۲٦/٥±۳/۹
چهار	۷۷±۱۳/۹	۱۷/۲±٤/۹	۲٤/۳±۳/٦	٦۳/٥±۱۰/۲	۲٦/٥±۳/۹
سطح معنی داری	۰/٤۳٤	۰/۹۱۸	۰/۷۱۹	۰/۳٥۱	۰/۰۱۲ *

* = وجود اختلاف معنی دار

شکل (۱) جهش mtDNA را روي ژل آگارز دو درصد در چهار مورد از آزمودنیها بعد از فعالیت وامانده ساز در ابتداي دوره تحقیق نشان مي دهد.



شکل ۱: جهش mtDNA روی ژل آگارز دو درصد در چهار مورد از آزمودنیها

نتايج آزمون علامت ها و سطوح معني داري آن جهت ارزيابي اختلاف ژنوم ميتوكندريايي آزمودنيهاي گروه هاي مختلف در قبل و بعد از فعاليت وامانده ساز درابتداي دوره تحقيق در جداول ۵ الي ۷ آمده است.

جدول ۵: نتایج آزمون علامت ها جهت ارزیابی تغییرات حذف در mt DNA خون کل آزمودنیها قبل و بعد از فعالیت وامانده ساز در ابتدای دوره تحقیق

متغیر / mtDNA	$mtDNA_1$	$mtDNA_2$	Sig.
عدم بروز حذف	٤٠	٣٥	٠/٠٥ *
بروز حذف	٠	٥	

$mtDNA_1$ = حذف ژنوم میتوکندریایی آزمودنی ها قبل از فعالیت وامانده ساز

$mtDNA_2$ = حذف ژنوم میتوکندریایی آزمودنی ها بعد از فعالیت وامانده ساز

* = وجود اختلاف معنی دار

نتايج آزمون علامت ها نشان مي‌دهد كه اختلاف حذف در ژنوم ميتوكندريايي آزمودني ها در قبل و بعد از فعاليت وامانده ساز در شروع دوره تحقيق معني دار است ($P < ۰/۰۵$). بنابراين ، فرضيه اول تحقيق مبني بر افزايش حذف در mtDNA لكوسيت هاي خون آزمودني هاي تمرين نكرده پس از يك جلسه تمرين وامانده ساز، تائيد مي شود و مي توان نتيجه گرفت كه تمرين وامانده ساز مي تواند موجب جهش (حذف معمولي 0kb) ژنوم ميتوكندريايي افراد غير ورزشكار گردد.

اين در حالي است كه تجزيه و تحليل نتايج آزمون كروسكال واليس حاكي از عدم وجود اختلاف معني دار در حذف در mtDNA چهارگروه به تفكيك هر مرحله از اندازه گيري است (جدول ٦).

جدول ٦: آزمون کروسکال والیس جهت ارزیابی تفاوت میزان حذف در mtDNA آزمودنی های چهار گروه در چهار مرحله اندازه گیری

شاخص آماری / گروه	مجذور کا	df	Sig.
$mtDNA_{۱}$	۰/۰۰۰	۳	۱/۰۰۰
$mtDNA_{۲}$	۶/۰۱۷	۳	۰/۱۱۱
$mtDNA_{۳}$	۶/۰۱۷	۳	۱/۰۰۰
$mtDNA_{۴}$	۰/۰۰۰	۳	۱/۰۰۰

به منظور تعیین اثر هشت هفته تمرین هوازي بر حذف در mtDNA لکوسیت هاي خون آزمودني ها، تفاوت میزان حذف mtDNA بعد از فعالیت وامانده ساز اول ($mtDNA_{۲}$) و قبل از فعالیت وامانده ساز دوم ($mtDNA_{۳}$) در گروه هاي یک و دو در جدول (۷) آمده است.

جدول ۷: آزمون علامت ها برای ارزیابی اختلاف میزان حذف در mtDNA بعد از فعالیت وامانده ساز اول و قبل از فعالیت وامانده ساز دوم در گروه های یک و دو

متغیر / حذف در گروه	$mtDNA_{۳}$	$mtDNA_{۲}$	Sig.
یک	۰	۰	۰/۵
دو	۰	۲	

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آزمون علامت ها نشان دهنده عدم وجود اختلاف معني دار ($P <$ ۰/۵) میان حذف در ژنوم میتوکندریایي بعد از فعالیت وامانده ساز اول ($mtDNA_{۲}$) و قبل از فعالیت وامانده ساز دوم ($mtDNA_{۳}$) مي باشد. بنابراین ، فرضیه دوم تحقیق، مبني بر کاهش میزان حذف در mtDNA لکوسیت هاي خون آزمودني هاي تمرین کرده بعد از هشت هفته تمرین هوازي رد مي شود. این بدان معني است که هشت هفته تمرین هوازي تاثیري برحذف درmtDNA لکوسیت هاي خون ندارد.

جدول (۸) اختلاف $mtDNA_{۳} - mtDNA_{۲}$ را به تفکیك در چهار گروه نشان مي دهد. این اختلاف تاثیر هشت هفته اعمال متغیر هاي مستقل را قبل از انجام فعالیت وامانده ساز دوم، در گروه ها نشان میدهد.

جدول ۸: آزمون علامت ها برای ارزیابی اختلاف میزان حذف $mtDNA_{۲}$-$mtDNA_{۳}$ پس از اعمال متغیرهای مستقل در چهار گروه

متغیر / حذف در گروه	$mtDNA_{۲}$	$mtDNA_{۳}$	سطح معنی داری
یک	۰	۰	۱/۰۰۰
دو	۲	۰	۰/۵۰۰
سه	۳	۰	۰/۲۵۰
چهار	۰	۰	۱/۰۰۰

جدول(۹) نتایج آزمون مان ویتني را جهت بررسي اختلاف بين توزيع هاي دو گروه تمرين كرده (گروه هاي يک و دو) و تمرين نكرده (گروه هاي سه و چهار) در حذف در mtDNA نشان مي دهد.

جدول ۹: آزمون مان ویتنی در گروه های تمرین کرده و تمرین نکرده برای ارزیابی اختلاف میزان حذف $mtDNA_{۲}$-$mtDNA_{۳}$

شاخص آماری / حذف	گروه	یومان ویتنی	Z	سطح معنی داری
$mtDNA_{۳}$	تمرین کرده	۲۰۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰
	تمرین نکرده			
$mtDNA_{۲}$	تمرین کرده	۱۹۰	-۰/۴۷۲	۰/۶۳۷
	تمرین نکرده			

جداول ۱۰ و ۱۱ تاثير يك جلسه تمرين وامانده ساز را برحذف mtDNA لكوسيتهاي خون آزمودنيهاي تمرين كرده (گروه هاي يک و دو) پس از هشت هفته ، از طريق دو آزمون علامتها و مان ويتني نشان مي دهند.

جدول ۱۰: نتایج علامت ها جهت تعیین میزان اختلاف حذف در mtDNA خون آزمودنی های گروه های تمرین (یک و دو) پس از یک جلسه تمرین وامانده ساز بعد از هشت هفته تمرینات هوازی

متغیر / حذف در گروه	$mtDNA_{۳}$	$mtDNA_{٤}$	سطح معنی داری
یک	۰	۰	۱/۰۰۰
دو	۰	۰	

جدول ۱۱: نتایج آزمون مان ویتنی جهت تعیین اختلاف میزان حذف درmtDNA خون آزمودنی های گروه های تمرین (یک و دو) پس از یک جلسه تمرین وامانده ساز بعد از هشت هفته تمرینات هوازی

شاخص آماری / حذف	گروه	تعداد	یومان ویتنی	Z	سطح معنی داری
$mtDNA_{۳}$	یک	۱۰	۵۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰
	دو	۱۰			
$mtDNA_{٤}$	یک	۱۰	۵۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰
	دو	۱۰			

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل هر دو آزمون (علامت ها- مان ویتني) نشان مي دهند که يك جلسه تمرين وامانده ساز، بعد از انجام هشت هفته تمرينات هوازي، تغييري در حذف در mtDNA خون آزمودنيهاي گروه هاي تمرين (يک و دو) ايجاد نمي کند.

جدول (۱۲) تاثير يك جلسه تمرين وامانده ساز را برحذف در mtDNA لکوسيت هاي خون آزمودني هاي گروه هاي ويتامينE، تمرين هوازي + ويتامين E (گروه هاي يک و سه) پس از هشت هفته نشان مي دهد.

جدول ۱۲: آزمون مان ویتنی جهت ارزیابی حذف درmtDNA خون گروه های یک و سه بعد از هشت هفته

شاخص آماری / حذف	گروه	تعداد	یومان ویتنی	Z	سطح معنی داری
$mtDNA_{۳}$	یک	۱۰	۵۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰
	سه	۱۰			
$mtDNA_{۴}$	یک	۱۰	۵۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰
	سه	۱۰			

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آزمون مان ویتني نشان مي دهد که يك جلسه تمرين وامانده ساز بعد از هشت هفته اعمال متغيرهاي مستقل (ويتامين E و تمرين هوازي) ، تغييري در حذف در mtDNA خون آزمودني هاي گروه هاي يک و سه ايجاد نمي کند. براي تعيين اثر تعاملي تمرين هوازي و دريافت مکمل ويتامين E، گروه هاي يک و چهار از نظر ميزان حذف در mtDNA بعد از فعاليت وامانده ساز دوم ($mtDNA_{٤}$) مورد مقايسه قرار گرفتند (جدول ۱۳).

جدول ۱۳: آزمون مان ویتنی جهت ارزیابی اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف مکمل ویتامین E

شاخص آماری / حذف	گروه	تعداد	یومان ویتنی	Z	سطح معنی داری
$mtDNA_{٤}$	یک	۱۰	۵۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰
	چهار	۱۰			

تجزیه و تحلیل نتایج آزمون مان ویتني نشان میدهد که اثر تعاملي هشت هفته تمرین هوازي و مصرف مکمل ویتامین E تغییري در حذف mtDNA آزمودنیها پس از یك جلسه فعالیت وامانده ساز ایجاد نمي کند. بنابراین، در یك جمع بندي کلي، با بررسي ژل آگاروز دو درصد برنامه Multiplex PCR مشخص شد که حذف معمولي mtDNA لکوسیتهاي خون افراد غیر ورزشکار، اگر چه در شروع دورة مطالعه از نظر آماري معني دار بود؛ اما با اعمال متغیر هاي مستقل در گروه هاي مختلف، در انتهاي هشت هفته هیچ حذفي در mtDNA لکوسیت هاي خون مشاهده نشد.

بحث و بررسی:

اختلاف معني داري در مدت زمان رکاب زدن بر روي چرخ کارسنج تا رسیدن به حالت واماندگي در آزمودنیهاي چهار گروه، قبل از اعمال متغیرهاي مستقل، مشاهده نشد. این امر همگني گروه ها را از این نظر تائید مي کند. بعد از اعمال متغیر هاي مستقل، افزایش معني دار در مدت زمان رسیدن به مرحله واماندگي، فقط در آزمودنیهاي گروه هاي تمرین (گروه هاي یك و دو) مشاهده شد؛ که نشان دهنده بهبود عملکرد استقامتي در گروه هاي تمرین نسبت به گروه هاي سه و چهار بود. افزایش مذکور در گروه دو بارزتر بود (p = ۰ در مقابل p< ۰/۰۰۱). این امر نشان دهنده عدم تاثیر مصرف ویتامین E در افزایش عملکرد سیستم قلبي – تنفسي مي باشد. عدم تاثیر مصرف ویتامین E بر عملکرد استقامتي و مدت زمان رکاب زدن دوچرخه سواران توسط لویس[1] و همکارانش (۱۹۹۳) نیز گزارش شد. آنها هیچ تغییر معني داري را در اثر دریافت روزانه ۸۰۰IU ویتامین E (در مقایسه با دارونما)، به مدت چهار هفته، برمدت زمان رکاب زدن، CK و MDA پلاسماي خون دوچرخه سواران مشاهده نکردند(۱۶). درمقابل، یافته اخیر (افزایش زمان رسیدن به واماندگي در گروه هاي تمرین) با آنچه حامدي نیا (۱۳۸۱) گزارش کرد، همخواني ندارد. وي تفاوت معني داري را در مدت زمان رکاب زدن تا رسیدن به مرحله واماندگي متعاقب هشت هفته تمرینات هوازي در گروه هاي (تمرین هوازي + ویتامین E) و (تمرین هوازي + دارونما) مشاهده نکرد؛ که احتمالاً علت آن تفاوت در نوع پروتکل اجرا شده براي دوره تمرینات هوازي در طي هشت هفته (دویدن به جاي رکاب زدن بر روي چرخ کارسنج) بود. زمان رسیدن به واماندگي در گروه هاي سه و چهار تحقیق، بعد از اعمال متغیرهاي مستقل، اندکي کاهش داشت که از نظر آماري معني دار نبود.

در یك جمع بندي کلي مي‌توان گفت که علیرغم استفاده روز افزون از مکمل هائي نظیر ویتامین E در نزد ورزشکاران، اثر بخشي ویتامین E در افزایش عملکرد جسماني و پیشگیري از فشار اکسایشي ناشي از ورزش به درستي ثابت نشده است (۱۶-۱۳، ۱۸). با آنکه بررسي هاي تهاجمي تري برروي حیوانات آزمایشگاهي قابل انجام

۱. Lewis et al.

است، اما تعميم نتايج حاصله به انسان اغلب سئوال برانگيز است. شواهد اوليه نشان مي دهند كه تحت شرايط فيزيولوژيك يا پاتولوژيك مختلف، هنگام ورزش شديد، تمرين در ارتفاع، و كم تحركي مواد ضد اكسايشي اندوژنيك به طور كامل از آسيب اكسايشي جلوگيري نمي كنند(۲). اين شرايط ممكن است به پروتئينها، DNA و ليپيدها آسيب وارد كرده و تعادل بين مواد اكسايشي/ ضد اكسايشي را به نفع مواد اكسايشي تغييردهد(۳، ۹، ۱۹، ۱۱، ۲۸). بنابراين، اين مطلب كه دريافت روزانه مكملهاي ضد اكسايشي، نظير ويتامين E، تا چه حد مي توانند از آسيب هاي احتمالي سلول ها در مقابل فشار اكسايشي ناشي از ورزش جلوگيري كنند، هنوز به خوبي مشخص نيست و نتايج مطالعات انجام شده تاكنون همسو نيستند. تناقض مشاهده شده در اين تحقيقات ممكن است به روشهاي اندازه گيري، شاخصهاي مورد استفاده، وضعيت تمريني و سطح آمادگي جسماني افراد، نوع، شدت و مدت فعاليت بدني و وضعيت تغذيه اي افراد مربوط باشد(۱۶-۱۳، ۲۹، ٦، ۱۹، ۲۲، ۲٦، ۱۸). از طرف ديگر، از آنجا كه ويتامين E يك ويتامين محلول در چربي است، بيش از ۹۰% كل ويتامين E بدن در بافت چربي يافت مي شود و مكانيسمهاي وافعي رهايش اين ويتامين از بافت، و تنظيم آن در پلاسما هنوز ناشناخته است(۵، ۷، ۲۱، ۲٤). بنابراين، تحقيقات خوب كنترل شدة كمي تا كنون در اين زمينه صورت گرفته است كه خود ضرورت انجام مطالعات بيشتر و دقيق تر در اين مورد را نشان مي دهد.

در تحقيق حاضر، نتايج حاصل از بررسي باندهاي مشاهده شده در ژل آگارز دو درصد با استفاده از تكنيك PCR، عدم بروز جهش mtDNA را در تمامي آزمودنيها، در حالت استراحت (قبل از اعمال متغيرهاي مستقل) نشان مي دهد. اين نتيجه با توجه به دامنه سني و شرايط طبيعي آزمودنيها قابل پيش بيني بود؛ زيرا حذف 5kb ژنوم ميتوكندريايي از جمله جهشهاي شناخته شده اي است كه با افزايش سن در بيشتر بافتهاي پيكري تجمع پيدا مي كند(۲۳). البته اين يافته با آنچه كه ايوايي و همكارانش (۲۰۰۳) در خونگيري قبل از انجام فعاليت شان گزارش كردند، همخواني ندارد. اين گروه تحقيقاتي، عليرغم استفاده از تكنيكهاي معتبر و متداول آزمايشگاهي، نتوانستند توجيهي براي حذف mtDNA لكوسيتهاي خون زنان غير ورزشكار در حالت استراحت ارائه دهند(۸).

يك جلسه فعاليت وامانده ساز بر روي چرخ كارسنج، در قبل از اعمال متغيرهاي مستقل، موجب بروز جهش در سه نفر از آزمودنيهاي گروه سه (گروه ويتامين E)، و دو نفر از آزمودنيهاي گروه دو (تمرينات هوازي + دارونما) گرديد كه از نظر آماري معني دار بود ($p< ۰/۰۵$). اين يافته، ضمن تائيد فرضيه اول تحقيق مبني بر افزايش حذف mtDNA لكوسيتهاي خون متعاقب يك جلسه فعاليت وامانده ساز در افراد تمرين نكرده، با نتايج مطالعات ساكائي و همكارانش (۱۹۹۹)، ايوايي و همكارانش (۲۰۰۳)، و جعفري و همكارانش (۱۳۸۳) مطابقت دارد.

در نقطه مقابل، يافته هاي اين مرحله از تحقيق با نتايج مطالعه جعفري (۲۰۰۵) همخواني ندارد. جعفري در بخشي از نتايج تحقيق خود گزارش كرد كه يك وهله فعاليت بدني هوازي با شدت هاي مختلف (۲۰ دقيقه با سرعت ٤۰

متر در دقيقه، و ٤٠ دقيقه با سرعت ٢٠ متر در دقيقه) موجب بروز حذف معمولي mtDNA در عضله اسكلتي موش هاي صحرائي نمي شود (١٠). علت اين تناقض احتمالا تفاوت در پاسخ هاي فيزيولوژيك بدن انسان و حيوانات آزمايشگاهي به تمرينات بدني (٨)، پاسخهاي متفاوت خون در مقابل عضله اسكلتي و همچنين نوع پروتكل اجرا شده مي باشد.

هشت هفته اعمال متغير هاي مستقل موجب ناپديد شدن جهشهاي مشاهده شده در دو نفر از آزمودنيهاي گروه دو، و سه نفر از آزمودني هاي گروه سه گرديد. هر چند كه اين تغييرات از نظر آماري معني دار نبود، اما چند توضيح احتمالي مي توان براي آن ارائه كرد :

١. اين تغييرات مي توانند ناشي از اثر تمرينات هوازي در گروه دو، و دريافت روزانه ٤٠٠ ميلي گرم ويتامين E در گروه سه باشند.
٢. ممكن است ناشي از فرآيندهاي ترميم mtDNA توسط سيستم هاي دفاع ضد اكسايشي آنزيمي بدن، كه در اين مطالعه مورد اندازه گيري قرار نگرفتند، باشند.
٣. و يا اينكه ممكن است، همانطور كه گروه تحقيقاتي ايوائي(٢٠٠٣) گزارش كرده اند، نوعي تغييرات پويا (ديناميك) بوده و ساير عوامل ناشناخته، تاثيري مشابه و يا حتي قوي تر از ورزش بر حذف mtDNA لكوسيت هاي خون داشته باشند.

يافته اين بخش از تحقيق با آنچه كه پارايز و همكارانش (٢٠٠٥) گزارش كردند همخواني داشته، ولي با نتايج مطالعات گروه تحقيقاتي هالر (٢٠٠٢) و جعفري (٢٠٠٥) مغايرت دارد.

هالر و همكارانش با بررسي تاثير ١٤ هفته تمرينات هوازي بر ١٠ فرد مبتلا به بيماري هاي ميتوكندريائي دريافتند كه ميزان جهش mtDNA در شش نفر از آزمودني ها افزايش پيدا كرد و وضعيت بيماري اين افراد بدتر شد. احتمالا علت تناقض مشاهده شده، در دو عامل سن آزمودني ها (مسن در برابر جوان) و وضعيت سلامتي آنها (بيمار در مقابل سالم) بوده است؛ كه خود مي توانند پاسخهاي فيزيولوژيك متفاوتي ايجاد نمايند. جعفري (٢٠٠٥) نيز در بخشي ديگر از تحقيق خود بروز جهش mtDNA را در عضله اسكلتي (نعلي) موشهاي صحرائي بعد از انجام سه ماه تمرينات شديد بر روي دستگاه نوارگردان (پنج جلسه در هفته، و در هر جلسه٢٠ دقيقه با سرعت ٤٠ متر در دقيقه) گزارش كرد(١٠). ممكن است علت اين تناقض نيز متفاوت بودن تاثير فشار اكسايشي ناشي از ورزش بر ميتوكندريهاي لكوسيتهاي خون و عضله اسكلتي باشد (٨). تفاوتهاي موجود در حجم و شدت تمرينات هوازي در طي دوره هاي تمريني، تغذيه آزمودنيها (دريافت روزانه ٤٠٠ ميلي گرم ويتامين E در مقابل عدم دريافت آن)، و تكنيكهاي آزمايشگاهي مورد استفاده نيز مي توانند از ديگر دلايل اين تناقض باشند.

عليرغم بروز حذف mtDNA لكوسيتهاي خون آزمودنيها در بعد از فعاليت وامانده ساز اول، يك جلسه فعاليت وامانده ساز، بعد از هشت هفته اعمال متغيرهاي مستقل، هيچ تغييري در حذف mtDNA لكوسيتهاي خون آزمودنيهاي چهار گروه ايجاد نكرد. اين بدان معني است كه هشت هفته تمرينات هوازي به همراه دريافت روزانه

۴۰۰ ميلي گرم مكمل ويتامين E، يا هر كدام به تنهائي، هيچ تاثيري بر حذف mtDNA لكوسيتهاي خون افراد غير ورزشكار ندارند. در ارتباط با يافته هاي اين بخش از تحقيق، تاكنون پژوهشي با پروتكل مشابه صورت نگرفته تا نتيجه آن با تحقيق حاضر مقايسه شود. اما با توجه به اينكه در هر روز ممكن است 10^4 تغيير اكسايشي در DNA هستة هر سلول (۱۷) رخ دهد، و از طرفي برآيند صدمات اكسايشي (حاصل از سه عامل مهم يعني فشار اكسايشي، عوامل ضد اكسايشي، و فرآيندهاي ترميمي) تعيين كننده واقعي ميزان آسيب به سلول هستند، به نظر مي رسد سازگاريهاي پيچيده و بعضا ناشناختة فيزيولوژيك، و ساير عوامل ناشناخته اي كه در اين تحقيق مورد اندازه گيري و بررسي قرار نگرفته اند، علت اين امر باشند.

در يك جمع بندي كلي مي توان نتيجه گرفت كه انجام هشت هفته تمرينات هوازي به همراه دريافت روزانه مكمل ويتامين E، و يا هر كدام به تنهائي، موجب بروز حذف mtDNA لكوسيتهاي خون افراد غير ورزشكار، بعد از يك جلسه فعاليت وامانده ساز، نمي شوند. بنابراين، با توجه به نتايج برخي از مطالعات انجام شده در اين زمينه، هر چند كه ممكن است شركت در تمرينات هوازي، با پروتكلي كه در اين تحقيق آمده است، موجب افزايش بنيانهاي آزاد و فشار اكسايشي گردد، اما نه تنها موجب بروز حذف mtDNA ميتوكندريهاي لكوسيتهاي خون نمي گردد، بلكه سبب توسعه عملكرد استقامتي و افزايش مدت زمان ركاب زدن تا رسيدن به حالت واماندگي آزمودنيهاي گروه هاي تمرين، خواه با مصرف ويتامين E و يا بدون آن، مي شود.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

منابع و ماخذ:

١- جعفري، ا. هوشمند، م. شفا، م. رستمي، م. دهقان، م. اوجاقي، ا. گودرزي، ا. (١٣٨٣)، تاثير آزمون هاي ورزشي هوازي و بي هوازي بر آنزيم هاي سرمي و حذف mtDNA لوكوسيت هاي خون انسان، ششمين همايش تربيت بدني و علوم ورزشي، اصفهان ١٣٨٣.

٢- حامدي نيا، م. نيكبخت، ح. رسائي، م. گائيني، ع. سلامي، ف. (١٣٨١)، اثر ورزش وامانده ساز بر شاخصهاي استرس اكسايشي و آنزيم كراتين كيناز در دانشجويان ورزشكار، نشريه الميپك، سال دهم شماره ٣ و ٤ (پياپي ٢٢)، صفحات ٤٧- ٣٩.

٣- Alessio, H.M. (١٩٩٣). Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*. ٢٥: ٢١٨–٢٢٤.

٤- Bouchard, C., Malina, R.M., Perusse, L. (١٩٩٧). Genetic of fitness and physical performance. Human Kinetics, pp: ٢٣-٣٨.

٥- Camus, G., Pincemail, J., Roesgen, A., Dreezen, E., Sluse, F.E., and Deby, C. (١٩٩٠). Tocopherol mobilization dunamic exercise after beta-adrenergic blockade. *Arch Int Physiol Bio Chim*. ٩٨: ١٢١-١٢٦.

٦- Cannon, J.G., Orencole, S.F., Fielding, R.A., Meydani, M., Meydani, S.N., Fiatarone, M. A., Blumberg, J.B., Evans, W. J. (١٩٩٠). Acute phase response in exercise: Interaction of and vitamin E on neutrophilols and muscle enzyme release. *Am J Physiol*. ٢٥٩: ١٢١٤-١٢١٩.

٧- http://www.planeikc.com/nutrition/Antioxidants/Vitamin E.html.

٨- Iwai, K., Miyao, M., Wadano, Y., Iwamura, Y. (٢٠٠٣). Dynamic changes of deleted mitochondrial DNA in human leucocytes after endurance exercise. *Eur J Appl Physiol.* ٨٨: ٥١٥-٥١٩.

٩- Jackson, M.J. (١٩٩٤). Exercise and oxygen radical production by muscle. In: *Exercise and Oxygen Toxicity*, C.K. Sen, L. Packer and O. Hanninen (ed.), pp.٤٩-٥٧. Elsevier Science, Amsterdam.

١٠- 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. *British J sports Med*. ٣٩: ٥١٧-٥٢٠.

١١- Ji, L.L., Fu, R.G. (١٩٩٢). Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. *J Applied Physiol.* ٧٢: ٥٤٩-٥٥٤.

١٢- Ji, L.L. (٢٠٠٠). Free radicals and antioxidant in exercise and sports. *Exercise and sport science*. (ed): Garrett, W.E., Kirkendal, D.T., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

١٣- Kanter, M.M. (١٩٩٥). Free radicals and exercise: Effects of nutritional antioxidant supplementation. In: *Exerc and Sports Sci Review*. J.O. Hollozy (ed.), pp. ٣٧٥-٣٩٨. William & Wilkins, Baltimore.

١٤- Kumar, C.T., Reddy, V.K., Plasad, M., Thyagaraju, K., Reddanna, P. (١٩٩٢). Dietary supplementation of vitamin E protects heart tissue from exercise induced oxidant stress. *Molecular and Cellular Biochemistry*. ١١١:١٠٩-١١٥.

۱۵- Lewis, C.L., Goldfarb, A.H. (۱۹۹۲). Effects of vitamin E on muscle soreness and serum creatine kinase in endurance cycling. Presented at southeast ACSM conference Aubum. AL.۷۰.

۱۶- Lewis, C.L., Goldfarb, A.H., Boyer, B.T. (۱۹۹۳). Vitamin E supplementation does not alter oxidative stress or soreness to cycling. Presented at southeast ACSM conference. Norfolk, VA.

۱۷- Loft, S., Astrup, A., Buemann, B., Poulsen, H.E. (۱۹۹٤), Oxidative DNA damage correlates with oxygen consumption in humans. *FASEB J.* ۸: ٥۳٤-٥۳۷.

۱۸- Mc Bride, J.M., Kramer, W.J., Triplett-Mc Bride, T., Sebastianelli, W. (۱۹۹۸). Effect of resistance exercise on free radicals production. *Med Sci Sports Exerc.* ۳۰: ٦۷-۷۲.

۱۹- Meydani, M., Evans, W.J. (*۱۹۹۳*). Free radicals, exercise, and aging. In: free radicals aging, B.P. Yu, (ed.), pp. *۱۸۳-۲۰٤.* CRC Press, Boca Raton, FL.

۲۰- Murakami, T., Shimomura, Y., Fujisuka, N., Nakai, N., Sugiyama, S., Ozawa, T., Sokabe, M., Horai, S., Tokuyama, K., Suzuki, M. (۱۹۹٤). Enzymatic and genetic adaptation of soleus muscle to physical training in rats. *Am J Physiol.* ۲٦۷: ۳۸۸-۳۹٥.

۲۱- Parise, G., Brose, A.N., Tarnopolsky, M.A. (۲۰۰٥). Resistance training decreases oxidative damage to DNA and increases cytochrome oxidase activity in older adults. *Experimental Gerontology*. ٤۰: ۱۷۳-۱۸۰.

۲۲- Pincemail, J., Deby, C., Camus, G., Pirnay, F., Bouchez, R., Masseaur, L., Gourier, R. (۱۹۸۸). Tocopherol mobilization during intense exercise. *Eur J Appl physiol Occup Physiol.* ٥۷: ۱۸۹-۱۹۱.

۲۳- Radak, Z., Asano, K., Inoue, M. (۱۹۹٦). Superoxide dismutase derivative prevents oxidative damage in liver and kidney of rats induced by exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. ۷۲: ۱۸۹-۱۹٤.

۲٤- Radak, Z., Goto, S. (۱۹۹۸). The effects of exercise, aging and caloric restriction on protein oxidation and DNA damage in skeletal muscle. In: Oxidative stress in skeletal muscle, A.Z. Reznick, L. Packer, C.K. Sen, J.O. Holloszy, and M.J. Jackson (eds.), pp.۸۹-۱۰۳. Birkhauser, Basel, Switzerland.

۲٥- Richter, C. (۱۹۸۸). Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging? *FEBS Letters.* ۲٤۱:۱-٥.

۲٦- Robbins, (۱۹۹۹). Cellular Pathology, Pathologic Basis of Diseases. In: vol۱, sixth edition.

۲۷- Sakai, Y., Iwamura, Y., Hayashi, J., Yamamoto, N., Ohkoshi, N., Nagata, H. (۱۹۹۹). Acute exercise causes mitochondrial DNA deletion in Rat skeletal muscle. *Muscle Nerve* ۲۲: ۲٥۸-۲٦۱.

۲۸- Sen, C.K., Rankinen, T., Vaisanen, S., Rauramaa, R. (۱۹۹٤). Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation. *J Appl Physiol.* ۷٦: ۲٥۷۰-۲٥۷۷.

۲۹- Subudhi, A.W., Davis, S.L., Kipp, R.W., Askew, E.W. (۲۰۰۱). Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. *International J Sport Nutrition and Exerc Metabolism.* ۱۱: ۳۲۰٤۱-۳۲۰٤۸.

۳۰- Taivassalo, T., Shoubridge, E., Tarnopolsky, M., Löfberg, M., Arnold, D., Haller, R.G. (۲۰۰۲). Resistance exercise training as therapy in patients with sporadic mtDNA mutations. http://www.mdausa.org/publications.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی