المپیک
فصلنامه
سال سیزدهم ـ شماره ۴ (پیاپی ۳۲) زمستان ۱۳۸۴

تغییرات DNA میتوکندری لکوسیتهای خون انسان بعد از یک جلسه فعالیت هوازی وامانده‌ساز و ارتباط آن با تغییرات آنزیمهای CK و LDH

❖ دکتر بهمن میرزائی، استادیار دانشگاه گیلان
❖❖ دکتر فاطمه سلامی، استادیار دانشگاه تربیت معلم
❖❖❖ دکتر فرهاد رحمانی نیا، دانشیار دانشگاه گیلان
❖❖❖❖ دکتر افشار جعفری، استادیار دانشگاه تبریز
❖❖❖❖❖ دکتر مسعود هوشمند، استادیار پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و زیست فناوری ایران
❖❖❖❖❖❖ مهدی شفا، کارشناس ارشد پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و زیست فناوری ایران

چکیده : هدف از این پژوهش، تعیین رابطهٔ بین تغییرات آنزیمهای کراتین کیناز (CK) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) سرم با حذف mtDNA لکوسیتهای خون انسان پس از شرکت در یک جلسه فعالیت هوازی وامانده ساز است. برای این منظور، ۴۰ دانشجوی غیرورزشکار (سن ۱/۵ ± ۲۱/۳ سال، وزن ۱۴/۴ ± ۷۴/۲ کیلوگرم و درصد چربی ۶/۱ ± ۱۷/۹) که همگی سالم و غیرسیگاری بودند، به طور داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. با توجه به دامنهٔ سنی و شرایط طبیعی آزمودنیها، احتمال جهشهای mtDNA به صورت حذف معمولی 5kb در حالت استراحت ضعیف بود. اما با وجود این، به منظور اطمینان کامل از نبود چنین جهشی، قبل از شروع فعالیت وامانده ساز تمام آزمودنیها از این نظر بررسی شدند تا در صورت وجود جهش احتمالی mtDNA در بعضی از نمونه‌های خونی قبل از انجام فعالیت وامانده ساز، آزمودنیهای مذکور از تحقیق خارج شوند. یک ساعت قبل و بلافاصله بعد از فعالیت فزاینده وامانده ساز، از آزمودنیها خونگیری شد تا پس از استخراج DNA میتوکندری لکوسیتهای خون، حذف 5kb ژنوم میتوکندریها با تکنیکهای مولکولی Multiplex PCR بررسی شود. همچنین تغییرات CK و LDH سرم، به عنوان شاخصهای استرس اکسایشی، قبل و بعد از فعالیت اندازه گیری شدند. پس از بررسی تجانس واریانس، مقایسهٔ میانگینهای پیش‌آزمون و پس‌آزمون آنزیمهای CK و LDH با آزمون t و متغیرهای غیرپارامتریک با آزمون خی دو، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج آزمون خی دو نشان دادند که فعالیت شدید هوازی تا حد واماندگی موجب بروز جهش ژنی مذکور در افراد غیرورزشکار می‌شود ($P<0/01$). همچنین، مشخص شد که بین جهش و تغییرات آنزیمهای مذکور ارتباط معناداری وجود ندارد.

واژگان کلیدی: ژنوم میتوکندریایی، استرس اکسایشی، حذف معمولی، فعالیت هوازی وامانده ساز

❖ E_mail: bmirzaei2000@yahoo.com

مقدمه

DNA میتوکندری (mtDNA) انسان، مولکول حلقوی دورشته‌ای با ۱۶۵۶۹ جفت باز آلی[1] (bp) است. بر اساس یافته‌های موجود، حدود ۱۰ درصد از پروتئینهای اصلی درگیر در روند فسفریلاسیون اکسایشی، اختصاصاً به دستور این مولکول و با همکاری ژنوم هسته‌ای ساخته می‌شوند (۱). بر اساس نظریهٔ هارمن[2] (۱۹۵۶) تولید گونه‌های اکسیژن فعال[3] (ROS) در موجودات هوازی و تعامل این گونه‌ها و سایر بنیانهای آزاد، با برهم زدن تعادل اکسایشی یا ضداکسایشی باعث بروز تغییرات مهمی در بیشتر بیومولکولهای بدن این جانداران از جمله DNA هسته‌ای (nDNA) و میتوکندری (mtDNA) می‌شود (۵، ۶، ۹، ۱۱، ۲۰، ۲۶، ۳۵، ۳۴، ۳۷). طبق 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، ۲۹). مصرف بیش از ۹۰ درصد اکسیژن سلولی در میتوکندریها، سازوکارهای ناکارامد ترمیمی در ژنوم میتوکندری و مجاورت غشای میتوکندریها با ROS موجب شد که ژنوم میتوکندریها ۱۰ برابر بیشتر از ژنوم هسته‌ای (nDNA) در معرض آسیبهای اکسایشی قرار گیرند (۲۷، ۱۰، ۸).

به همین منظور، محققان در طول 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 اکسیژن فعال، نظیر بنیانهای آزاد سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل هنگام انجام فعالیتهای بدنی شدید نسبت به هنگام استراحت به دلیل افزایش ملاحظه در مصرف اکسیژن بسیار بیشتر است (۲۳).

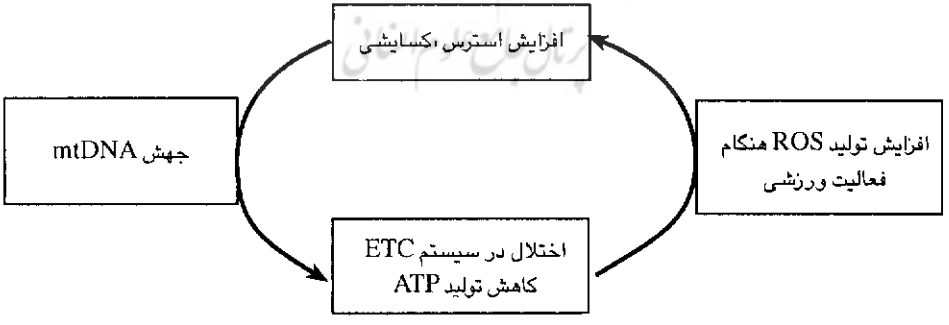
در دو دههٔ گذشته، دانشمندان برای برآورد اسیبهای ناشی از ورزش شدید بر سلول و به ویژه DNA آن، مطالعات گسترده‌ای را از طریق اندازه‌گیری شاخصهای استرس اکسایشی[5] آغاز کرده‌اند. برای این منظور، شاخصهای نظیر 8-OHdG[6] ادرار، مالون دی آلدئید (MDA)، پروتئین کربونیل شده (CP)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و کراتین کیناز (CK) خون بررسی شده‌اند. از آنجا که مطالعات مربوط به mtDNA و ورزش هنوز در ابتدای راه است، تا کنون مطالعات اندکی رابطهٔ میان جهشهای mtDNA و شاخصهای استرس اکسایشی را مورد بررسی قرار داده‌اند.

موراکامی[7] (۱۹۹۵) و ایوائی[8] (۲۰۰۳) نشان دادند که افزایش قابل توجه مصرف اکسیژن میتوکندریایی هنگام ورزش می‌تواند به علت تولید گونه‌های اکسیژن فعال، موجب آسیب mtDNA تحت شرایط استرس، اکسایشی شود (۱۲، ۲۵). این امر، خود موجب اختلال در روند تولید انرژی در مسیر فسفریلاسیون اکسایشی می‌شود. از طرف دیگر، کاهش مداوم تأمین انرژی، بر عملکردهای سلول آسیب وارد می‌کند و باعث پیری زودرس و افزایش بروز بیماریهای متفاوت می‌شود (۹، ۲۰، ۳۳، ۳۷). به علاوه، مطالعهٔ میدانی[9] و همکارانش (۱۹۹۳) نشان می‌دهد که تولید بنیانهای آزاد در عضلات اسکلتی هنگام انجام فعالیتهای بدنی نسبت به استراحت بسیار بیشتر است (۲۳). رزنیک و همکارانش[10] (۲۰۰۰)

1. Base Pair
2. Harmman
3. Reactive Oxygen Species
4. Linnance et al.
5. Oxidative stress
6. 8-hydroxdeoxyguanosine
7. Murakami et al.
8. Iwai K. et al.
9. Meydani et al.
10. Reznick et al

نیز اشاره کردند که فعالیتهای بدنی، یکی از منابع اصلی تولید بنیانهای آزاد و استرس اکسایشی به شمار می‌روند (۳۰). ساکایی و همکارانش[1] (۱۹۹۹) برای اولین بار دریافتند که یک جلسه فعالیت هوازی شدید می‌تواند در بروز جهش mtDNA عضلات اسکلتی موشهای صحرایی دخالت داشته باشد. آنها همچنین عنوان کردند که دربارهٔ آسیبهای اکسایشی mtDNA، باید ویژگی تارهای عضلانی را نیز در نظر گرفت (۳۲). گروه تحقیقاتی ایوائی (۲۰۰۳) با بررسی mtDNA گلبولهای سفید پنج زن جوان سالم دریافت که ۳۰ دقیقه دوچرخه‌سواری با شدت ۵۰ تا ۶۰ وات و با سرعت ۶۰ دور در دقیقه (rpm) برای سه روز متوالی، موجب بروز حذف معمولی[2] ۴۹۷۷ جفت‌باز در mtDNA لکوسیتهای خون آزمودنیها می‌شود. حذف مشاهده شده پس از دو الی چهار روز ناپدید شد و سپس پنج الی شش روز بعد از آخرین جلسه فعالیت مجدداً آشکار شد. آنها این پدیدهٔ ناپدید شدن حذف mtDNA و ظهور مجدد آن را «روند پویا» نامیدند (۱۲). با این حال، جعفری (۱۳۸۲) در مطالعهٔ خود اشاره می‌کند که یک جلسه فعالیت بدنی هوازی با شدتهای متفاوت، نمی‌تواند باعث بروز جهش mtDNA عضلهٔ نعلی موشهای صحرایی شود. به علاوه، تمرینهای هوازی با شدت متوسط نیز هیچ‌گونه دخالتی ندارد. اما تمرینهای هوازی شدید می‌توانند سبب بروز حذف ۴/۶ کیلو بازی در mtDNA عضلهٔ نعلی شوند (۱). جعفری و همکارانش (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 (CK و LDH)، جهشهای میتوکندریایی نیز مشاهده می‌شوند (۲). بنابراین، این احتمال وجود دارد که فعالیت بدنی شدید، ورزشکاران را در معرض آسیب اکسایشی بنیانهای آزاد قرار دهد (شکل ۱).

البته، برخی از پژوهشگران نیز بودن افزایش و یا حتی کاهش استرس اکسایشی را متعاقب ورزشهای هوازی گزارش کرده‌اند (۳، ۳۱، ۷، ۲۱، ۴، ۲۲، ۳۶). پارایز[3] و همکارانش (۲۰۰۵) با بررسی تأثیر ۱۴



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

1. Sakai et al.
2. Common deletion
3. Parise, G. et al.

هفته تمرین مقاومتی روی ۲۸ زن و مرد مسن (۵/۱ ± ۶۸/۵ سال) دریافتند که شرکت در این تمرینها علاوه بر افزایش قدرت و هایپرتروفی عضلانی، موجب کاهش استرس اکسایشی و افزایش فعالیت آنزیمهای ضداکسایشی می‌شود. آنها همچنین نشان دادند که انجام این تمرینها نه تنها موجب بروز حذف mtDNA افراد مسن نمی‌شود، بلکه می‌تواند از میزان آسیب به DNA سلول نیز بکاهد. این نتیجه از طریق کاهش معنادار میزان 8-OHdG مشاهده شده در ادرار، به عنوان یکی از شاخصهای آسیب سلولها به دست آمد (۲۸).

چنین نتایج متناقضی موجب می‌شوند که 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، برای ارتباط آن با بالا رفتن سن در mtDNA بیشتر بافتهای پیکری انسان (۲۹) اهمیت ویژه‌ای دارد.

با توجه به نبود اطلاعات کافی دربارهٔ نقش استرس اکسایشی ناشی از فعالیتهای بدنی در بروز آسیبهای mtDNA، بر آن شدیم که رابطهٔ بین تغییرات آنزیمهای CK و LDH را با حذف ژنوم میتوکندریایی لکوسیتهای خون انسان، پس از شرکت در یک فعالیت وامانده ساز مورد بررسی قرار دهیم.

روش شناسی تحقیق

مطالعهٔ حاضر به صورت شبه تجربی یک گروهی با پیش آزمون ـ پس آزمون انجام شد. به منظور هدفهای تحقیق، ۴۰ دانشجوی مرد، سالم و غیرورزشکار، پس از پرکردن فرمهای مربوطه، به طور داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. هیچ یک از آزمودنیها سابقهٔ مصرف سیگار، داروهای خاص و شرکت در فعالیتهای ورزشی منظم را 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. هریک از آزمودنیها پس از گرم کردن اولیه، روی چرخ کارسنج (دوچرخه **تنتوری**[2] مدل e۴۳۳ 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 هنگام توقف عمل رکاب زدن یا ناتوانی در حفظ سرعت ۶۰ دور در دقیقه ادامه یافت. برای استخراج mtDNA لکوسیتهای خون آزمودنیهای تحقیق (کیت ۱۰۰ Diaton DNA Prep) از خون سیاهرگی استفاده شد. یک ساعت قبل و بلافاصله پس از شرکت در فعالیت وامانده ساز، ۵ میلی لیتر خون سیاهرگی در وضعیت نشسته از آرنج راست هریک از آزمودنیها گرفته شد. به هریک از نمونه‌های خونی تهیه شده نیم میلی لیتر محلول نیم مولار EDTA اضافه شد و تحت شرایط کنترل شده در دمای ۴ درجهٔ سانتی گراد به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شد. آنزیمهای CK و LDH سرمی نیز با استفاده از روش طیف‌سنجی نوری، قبل و بعد از فعالیت وامانده‌ساز اندازه‌گیری شدند. مخلوط واکنش PCR پس از انجام محاسبات مورد نیاز، در حجم نهایی ۲۵µl روی یخ در لوله‌های ۰/۵ میکرولیتری آماده شد. برای تهیهٔ هریک از واکنشها ابتدا آب اضافه شد. سپس به ترتیب، پرایمرها، dNTP، DNA الگو، DMSO و در نهایت آنزیم اضافه شدند.

1. Body Composition analyzer
2. Tunturi

واکنش Multiplex به صورت زیر آماده شد:

Taq ۰/۵u	ONP_{86} ۱۰pmol / µl	ONP_{89} ۱۰pmol / µl	ONP_{74} ۱۰pmol / µl	ONP_{25} ۱۰pmol / µl	DNA ۵۰ng / µl	dNTP ۱۰mmol	PCR $buffer_{10x}$ $+Mgcl_2$	H_2O
۱ µ	۱ µ	µ	۱ µ	۱ µ	۱ µ	۰/۷ µ	۲/۵ µ	۱۵/۸ µ

در واکنش Multiplex از پرایمرهای ONP_{89} و ONP_{86} به عنوان کنترل داخلی و پرایمرهای ONP_{74} و ONP_{25} برای تشخیص حذف معمولی mtDNA استفاده شدند.

نام آغازگر	موقعیت نوکلئوتیدی	ژن	توالی آغازگر
ONP_{86}	LF ۵۴۶۱-۵۴۸۰	ND_2	-CCCTTACCACGCTACTCCTA-
ONP_{89}	HB ۵۷۴۰-۵۷۲۱	OL	-GGCGGGAGAAGTAGATTGAA-
ONP_{25}	LF ۸۱۶۱-۸۱۸۰	CO_{II}	-CTACGGTCAATGCTCTGAAA-
ONP_{74}	HB ۱۳۶۴۰-۱۳۶۲۱	ND_5	-GGTTGACCTGTTAGGGTGAG-

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

برنامهٔ Multiplex PCR به صورت زیر انجام شد:

تعداد چرخه‌ها[1] ۳۵ دور
- واسرشتی[2] اولیه، ۹۴ درجهٔ سانتی گراد به مدت پنج دقیقه
- واسرشت، ۹۴ درجهٔ سانتی گراد به مدت یک دقیقه
- اتصال[3]، ۵۵ درجهٔ سانتی گراد به مدت یک دقیقه
- طویل شدن[4]، ۷۲ درجهٔ سانتی گراد به مدت یک دقیقه
- طویل شدن نهایی، ۷۴ درجهٔ سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه

1. Cycles
2. Denaturaetion
3. Annealing
4. Extension

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

داده‌های حاصل از این تحقیق ابتدا با استفاده از روشهای آمار توصیفی تنظیم شدند و مورد بررسی مقدماتی قرار گرفتند. سپس ، با استفاده از آمار استنباطی ناپارامتریک (آزمون خی دو) و پارامتریک (t همبسته) مورد بررسی قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری رابطهٔ بین جهش mtDNA و تغییرات آنزیمهای CK و LDH سرمی ، از ضریب همبستگی کندال استفاده شد. تمام عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و EXcel انجام شدند.

یافته‌های تحقیق

ویژگیهای فردی و زمان رسیدن به واماندگی آزمودنیها روی چرخ کارسنج ، در جدول (۱) نشانداده شده‌اند. جدول ۲ ، مقادیر سرمی CK و LDH را قبل و بعد از اعمال متغیر مستقل نشان می‌دهد.

جدول ۱. ویژگیهای فردی، ترکیب بدن و زمان واماندگی آزمودنیها

آزمودنیها (تعداد)	سن (سال)	قد (Cm)	وزن (kg)	چربی (درصد)	توده بدون چربی (kg)	BMI (kg/m^2)	زمان واماندگی دقیقه
۴۰	۲۱/۳±۱/۵	۱۷۶±۵/۴	۷۴/۲±۱۴	۱۷/۹±۶/۱	۶۰±۹/۶	۲۳/۷۴	۲۵/۴۳/۸

جدول ۲. مقادیر سرمی CK و LDH در پیش‌آزمون و پس‌آزمون

متغیر / آزمون	LDH (Iu)	CK (Iu)
پیش آزمون	۳۸۱۹۶	۱۶۰۷۳
پس‌آزمون	۴۱۷۹۳	۱۸۰۷۳

بررسی‌های حاصل از Multiplex PCR نشان دادند که جهش mtDNA به صورت حذف معمولی 5kb در هیچ کدام از آزمودنیها ، قبل از شروع فعالیت وامانده ساز دیده نشد ، اما جهش مذکور در نه مورد از آزمودنیهای گروه تحقیق ، بعد از فعالیت وامانده ساز مشاهده شد (شکل ۱).

شکل ۱. جهش mtDNA روی ژل آگارز دو درصد در چند مورد از آزمودنیها بعد از فعالیت وامانده ساز

نتایج آزمون خی دو $(x^2 = ۱۲/۱)$ نشان دادند که جهش مشاهده شده در پس‌آزمون از نظر آماری معنادار بود ($P<۰/۰۱$).

تجزیه و تحلیل آماری حاصل از آزمون t همبسته نیز نشاندهندهٔ وجود تفاوت معنادار ($P<۰/۰۰۱$ و $t = ۹/۳۱$) در مقادیر CK و LDH سرم آزمودنیها ($P<۰/۰۰۵$ و $t = ۲/۷۱۶$) قبل و بعد از فعالیت وامانده ساز بود. مقادیر CK و LDH سرمی در هر نه مورد جهش mtDNA آزمودنیها، بعد از فعالیت وامانده ساز افزایش یافت. با توجه به اینکه در موارد غیرجهش یافتهٔ mtDNA نیز افزایش معنادار این آنزیمها مشاهده شد، آنالیز آماری حاصل از آزمون ضریب همبستگی کندال در هیچ یک از موارد: الف. جهش mtDNA و مقایر این آنزیمها در پیش‌آزمون، ب. جهش mtDNA و مقادیر این آنزیمها در پس‌آزمون و ج. جهش mtDNA و تفاوت مقادیر پیش‌آزمون و پس‌آزمون این آنزیمها، رابطه معناداری را نشان نداد (جدولهای ۳ و ۴).

جدول ۳. ارتباط میان جهش mtDAN و مقادیر CK سرم در سه مرحله

شاخص آماری / مرحله‌ها	tau	Sig.	نتیجه
الف	-۰/۰۸۵	۰/۶۱۲	نبودن ارتباط معنادار
ب	-۰/۰۲۹	۰/۷۳۰	نبودن ارتباط معنادار
ج	-۰/۰۳۲	۰/۸۰۸	نبودن ارتباط معنادار

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

جدول ۴. ارتباط میان جهش mtDAN و مقادیر LDH سرم در سه مرحله

شاخص آماری / مرحله‌ها	tau	Sig.	نتیجه
الف	-۰/۱۱۰	۰/۴۰۷	نبودن ارتباط معنادار
ب	-۰/۰۲۵	۰/۵۴۹	نبودن ارتباط معنادار
ج	-۰/۰۳۰	۰/۸	نبودن ارتباط معنادار

بحث و نتیجه گیری

در بسیاری از تحقیقات انجام شده تا سال ۲۰۰۰ ، استخراج mtDNA از طریق بیوپسی بافتهای حیوانات آزمایشگاهی صورت می گرفت . با توجه به دردناک و ناخوشایند بودن این روشها در انسان ، ون‌اسن[1] و همکارانش (۲۰۰۰) با نشان دادن وجوه همبستگی قوی ($P<0/01$ ، $r=0/89$) بین mtDNA استخراج شده از بافتهای بدن و میزان هتروپلاسمی لکوسیتها (۱۲) افقهای تازه‌ای را برای انجام مطالعات مذکور در انسان نمایان ساختند ؛ به طوری که در سالهای اخیر ، مطالعات انسانی بیشتری دربارهٔ استرس اکسایشی ناشی از فعالیت شدید بدنی و آسیبهای mtDNA صورت گرفته‌اند با وجود این ، هنوز پژوهشهایی که رابطهٔ mtDNA و استرس اکسایشی را مشخص سازند ، ابتدای کار هستند .

در تحقیق حاضر ، نتایج حاصل از بررسی ژل آگازر دو درصد با استفاده از تکنیک Multiplex PCR نبودن جهش mtDNA را در تمام آزمودنیها ، در حالت استراحت (قبل از انجام فعالیت وامانده ساز) نشان می دهد . این یافته‌ها با توجه به دامنهٔ سنی و شرایط طبیعی آزمودنیها قابل پیش‌بینی بود ، زیرا حذف 5kb ژنوم میتوکندریایی از جمله جهشهای شناخته شده‌ای است که با افزایش سن در بیشتر بافتهای پیکری تجمع پیدا می کند (۲۹) . با وجود این ، به منظور اطمینان کامل از نبود چنین جهشی ، قبل از شروع فعالیت وامانده ساز نیز تمام آزمودنیها از این نظر بررسی شدند تا در صورت وجود جهش احتمالی mtDNA در برخی از نمونه های خونی ، آزمودنیهای مذکور تحقیق خارج شوند .

فعالیت وامانده ساز روی چرخ کارسنج موجب بروز جهش mtDNA در نه نفر از آزمودنیهای تحقیق شد . این یافته با نتایج مطالعات ساکایی (۱۹۹۹) ، ایوائی (۲۰۰۳) و جعفری (۱۳۸۳) مطابقت دارد . ساکایی و همکارانش (۱۹۹۹) گزارش کردند که یک جلسه فعالیت هوازی شدید ، موجب جهش mtDNA عضلات اسکلتی موشهای صحرایی می شود . آنها نتیجه گرفتند که استرس اکسایشی ناشی از فعالیت بدنی شدید موجب بروز تغییر در mtDNA می شود (۲۲) . ایوائی و همکارانش (۲۰۰۳) گزارش کردند که ۳۰ دقیقه رکاب زدن روی چرخ کارسنج با شدت ۵۰ تا ۶۰ وات با سرعت ۶۰ rpm ، موجب بروز حذف معمولی در mtDNA لکوسیتهای خون زنان غیرورزشکار می شود (۱۲) . جعفری و همکارانش (۱۳۸۳) نیز گزارش کردند که آزمونهای هوازی بالک و بی‌هوازی وینگیت در دو گروه از آزمودنیهای مرد ۱۸ تا ۲۰ ساله موجب بروز جهش mtDNA لکوسیتهای خون می شود (۲) .

در نقطهٔ مقابل ، یافته های این مرحله از تحقیق با نتایج بخشی دیگر از مطالعات جعفری همخوانی ندارند (۱ ، ۱۳ ، ۱۴ ، ۱۵ ، ۱۶ ، ۱۷ ، ۱۸) . جعفری و همکارانش گزارش کردند که یک جلسه فعالیت بدنی هوازی با شدتهای متفاوت نمی‌تواند باعث بروز حذف معمولی mtDNA در عضله اسکلتی موشهای صحرایی شود و این جهش تنها بعد از انجام یک دورهٔ سه ماهه (پنج روز در هفته) از تمرینهای شدید بروز می کند . چند توضیح احتمالی برای این تناقض می توان ارائه داد :

۱ . پاسخ فیزیولوژیک بافتهای انسان و حیوانات آزمایشگاهی به تمرینهای بدنی تا حدودی متفاوت است .

۲ . اثر استرس اکسایشی ناشی از ورزش بر خون و بافت متفاوت است . بنابراین ، باید ملاحظاتی را در تفاوتهای بین بافت و لکوسیتهای خون در نظر گرفت .

1. Vav Essen et al

۳ . تفاوتهای موجود در حجم و شدت ورزش نیز می‌توانند از دیگر دلایل این اختلافات باشند .

۴ . مقایسهٔ میانگینهای آنزیمهای CK و LDH سرمی در پیش‌آزمون و پس‌آزمون تفاوت معناداری را نشان می‌دهد . با این حال ، رابطه‌ای بین جهش mtDNA و تغییرات این آنزیمها در هیچکدام از سه حالت : الف . پیش‌آزمون ، ب . پس‌آزمون و ج ، اختلاف پیش‌آزمون ـ پس‌آزمون مشاهده نشد . این موضوع بیانگر آن است که برای نتیجه‌گیری کامل‌تر در این زمینه ، بهتر است که سایر شاخصهای استرس اکسایشی نظیر CP ، MDA و 8-OHdG نیز بررسی شوند . همچنین ، اندازه‌گیری آنزیمهای ضداکسایشی در آزمودنیهایی که جهش mtDNA در آنان دیده نشده ، می‌تواند توجیه مناسب‌تری را ارائه دهد .

در نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که یک جلسه فعالیت بدنی هوازی تا حد واماندگی می‌تواند موجب بروز حذف 5kb در mtDNA افراد غیرورزشکار شود از طرف دیگر ، افزایش مقادیر آنزیمهای CK و LDH سرمی نمی‌تواند شاخصهای قوی و مناسبی برای توجیه جهش مذکور به شمار روند و احتمالاً سایر عاملهای ناشناخته ، تأثیری مشابه و حتی قوی‌تر از استرس اکسایشی از ورزش بر جهش mtDNA دارند .

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

منابع و مآخذ

۱. جعفری، افشار؛ حسین‌پور فیضی، محمدعلی؛ هوشمند، مسعود؛ رواسی، علی اصغر و منتظری، مریم، (۱۳۸۳)، تأثیر تمرینات هوازی با شدتهای مختلف بر حذف mtDNA عضلهٔ نعلی موشهای صحرایی، نشریهٔ حرکت، شمارهٔ ۱۸ : ۹۷ تا ۱۱۵.

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

۳. حامدی نیا، محمدرضا؛ نیکبخت، حجت‌الله؛ رسائی، محمدجواد؛ گائینی، عباسعلی و سلامی، فاطمه، (۱۳۸۱)، اثر ورزش وامانده ساز بر شاخصهای استرس اکسایشی و آنزیم کراتین کیناز در دانشجویان ورزشکار، نشریهٔ المپیک، سال دهم شمارهٔ ۳ و ۴ (پیاپی ۲۲) : ۳۹ تا ۴۷

4. Alessio, H. M, Hagerman, B., Uikerson, K.F., Ambrose, J., Erice R.R., and Wiley, R. L. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. Med. Sci. Sports. 3: 1576-1581.
5. Ames, B.N., M.K. Shinegawa, and T.M. Hagen. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proceeding of National Academy of Sciences of USA. 90: 7915-7922.
6. Beckman, K.B. and B.N. Ames. (1998). The free radical theory of aging matures. Physiological Reviews. 78: 575-557.
7. Child, R. B, Wilkinson, D. M., Fallowfield, J. L, and Donnelly, A. E. (1998). Elevated sersum antioxidant capacity and plasma malodialdyde concentration in response to a stimulated half-marathon run. Med. Sci. Sports Exerc. 30: 1603-1607.
8. Clayton, D. A., J.N. Dona and E.C. Friedberg. (1974). The absence of a pyrimidine dimmer repair mechanism in mammalian mitochondria. Proceeding of the National Academy of Sciences USA. 71: 2777-2781.
9. Fleming, J. E., J. Miquel, S. D. Cottrell, et al. (1982). Is cell aging caused by respiration- dependent injury to mitochondrial genome? Gerontogy. 28: 44-53.
10. Gross, N.J., G.S. Getz and M. Rabinowitz. (1969). Apparent turnover of mitochondrial deoxyribonucleic acid and mitochondria phospholopids in the tissues of the rat. Journal of Biolojical Chemistry. 244: 1552-1562.
11. Harman, D. (1956). Aging: A theory based on free radical and radiantion chemistry. Journal of Gerontology. 11: 298-300.
12. Iwai, K., M. Miyao, Y. Wadano, and Y. Iwamura. (2003). Dynamic changes of deleted mitochondrial DNA in human leucocytes after endurance exercise. Eur J Appl Physiol. 88: 515-519.
13. 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 Journal of sports medicine (in press).
14. Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshmand. (2004). The effect of oxidative stress induced by aerobic exercise on mtDNA deletion in the solues of trained nd untranined Rats. Proceeding in 4th international congress of physical education & sports science, Iran.
15. Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshmand. (2003). Relationship between heavy aerobic training and aging (by investigntion of mtDAN common deletion in skeletal muscles of rats). Proceeding in 8th Iranian genetics congress, Iran.
16. Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshmand. (2003). The effect on intensive aerobic training on mtDNA common deletion in skeletal muscle. Preceeding in 1st scientific meeting of Asian society for mitochondrial research and medicine.
17. Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshmand. (2004). Effect of aerobic exercise training on mtDNA deletion in the skeletal of trained and untrained Wistar Rats. Proceeding in 9th International Congress of the World Muscle Society.
18. Jafari, A., M.A.H. Pourfazi, A.A. Ravasi, M. Houshmand (2004). Effect of heavy aerobic training on mitochondrial genome damage in skeletal muscle Proceeding in 1st international congress of Caspian region universities.

19. Linance, A.W., S. Marzuki, T. Ozawa and M. Tanaka. (1989). Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to again and degenrative diseases. Lancet. 8639: 642-645.
20. Linnane, A. W., C. Zhang, A. Baumer, and P. Nagley. (1992). Mitochondrial DNA mutation and the ageing process. In: bioenergy and pharmacological intervention. Mutat Res. 275: 195-208.
21. Mc Bride, J.M., Kramer, W. J., Triplett-Mcbride, T., and Sebastianelli, W. (1998). Effect of resistance exercise on free radial production. Med. Sci. Sports Exerc. 30: 67-72.
22. Meijer, E. P, Senden, J., Coolen, S.A. J, and Westerterp, K. R. (2000). Effect on traning on exercies-induced oxidative stress in the elderly as measured by free radial products of antipyrine. The journal of physiology. 528: 46.
23. Meydani, M., and W. J. Evans. (1993). Free radicals, exercise, and aging, In: free radicals aging, B.P. Yu, (ed.), pp. 183-204. CRC Press, Boca Raton, FL.
24. Mitsuyoshi, M., and T. Kaneko. (2000). The cheminstry of reactive oxygen species and related free radicals. In: Free radicals in exercise and aging; Z.
25. Murakami, Y., Shimomura, N. Fujisjka. (1994). Enzymatic and genetic adaptation of soleus muscle to physical training in rats. Am I Physiol. 267: E388-E395.
26. Ozawa, R. (1995). Mechanism of somatic mitochondaril DNA mutations associated with age and diseases. Biochem Biophys Acta. 1271: 177-189.
27. Ozawa, T. (1997). Genetic and functional changes in mitochondria associated with aging. Physiological Reviews. 77: 425-464.
28. Parise, G., Brose, A.N., Tarnopolsky, M.A. (2005). Resistance training decreases oxidative damage to DNA and increases cytochrome oxidase activity in older adults. Experimental Gerontology. 40; 173-180.
29. 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. Hollоszy, and M.J. Jackson (eds.): 89-103.
30. Reznick, A. Z, Carmeli, E. and Lavian, G. (2000). The role of antioxidant nutrition in exercise and aging. In: Free radicals in exercise and aging, Radak, Z. (ed). 73-117.
31. Sahlin, K., Cizinsky, S., Warholm, M., Hoberg, J. (1992). Repetitive static muscle contractions in humans: a trigger of metabolic and oxidative stress? Eur J Appl Physiol. 64: 228-36.
32. Sakai, Y., Y. Iwamura, J. Hayashi. N. Yamamoto, N. Ohkoshi and H. Nagata. (1999). Acute exercise caused mitochondrial DAN deletion in Rat skeletal muscle. Muscle Nerve. 22: 258-261.
33. Sawyer, D.T. (1991). Oxygen Chemistry. Oxford University Press, New York.
34. Sohal, R.S., and r. Weindruch. (1996). Oxidative stress, caloric restriction, and aging. Science. 273: 59-63.
35. Stadtman, E.R. (1992). Protein Oxidation and aging. Science. 257: 1220-1224.
36. Subudhi, A. W., Davis, S.L., Kipp, R.W., and Askew, E.W. (2001). Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism. 11: 32041.
37. Wallance, D.W. (1992). Mitochondrial genetic. A paradigm for aging and degenerative disease? Science. 256: 628-632.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی