

حرکت

شماره ۲۵ - ص ص : ۹۷ - ۸۳

تاریخ دریافت : ۸۳/۱۲/۲۵

تاریخ تصویب : ۸۴/۰۲/۱۷

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

دکتر بهمن میرزایی^۱ - دکتر فاطمه سلامی - دکتر فرهاد رحمانی نیا - دکتر افشار جعفری -
دکتر مسعود هوشمند - 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 رابطه لاکتات و حذف mtDNA لکوسیت‌های خون انسان پس از شرکت در یک جلسه فعالیت هوازی وامانده‌ساز است. بدین منظور، ۴۰ دانشجوی غیرورزشکار (سن $21/3 \pm 1/5$ سال، وزن $74/2 \pm 14/4$ کیلوگرم، درصد چربی $17/9 \pm 6/1$) که همگی سالم و غیرسیگاری بودند، به طور داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. باتوجه به دامنه سنی و شرایط طبیعی آزمودنی‌ها، احتمال وجود جهش‌های mtDNA به صورت حذف معمولی ۵kb 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 فزاینده وامانده‌ساز اجرا شد. بلافاصله بعد از فعالیت مذکور از آزمودنی‌ها خونگیری به عمل آمد تا پس از استخراج DNA میتوکندری لکوسیت‌های خون، حذف ۵kb 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 نرمالیت، مقایسه میانگین‌های پیش و پس از 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 ($P < 0/01$).

واژه‌های کلیدی

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

مقدمه

ژنوم میتوکندریایی (*mtDNA*) انسان، یک مولکول حلقوی دو رشته‌ای با ۱۶۵۶۹ جفت باز آلی^۱ (*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 نظریه هارمن^۲ (۱۹۵۶)، تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن^۳ (*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 (*ndDNA*) و میتوکندریایی (*mtDNA*) می‌شود (۵، ۶، ۹، ۱۱، ۲۰، ۲۶، ۳۳، ۳۴ و ۳۶). براساس مطالعات گروه لینانس^۴ (۱۹۸۹)، تجمع جهش‌های *mtDNA* ناشی از افزایش تولید *ROS* می‌تواند یکی از علل بیماری‌های استحال‌ای و بروز فرایند پیری باشد (۱۹). مصرف بیش از ۹۰ درصد اکسیژن سلولی در میتوکندری‌ها، ساز و کارهای ناکارآمد ترمیمی در ژنوم میتوکندری و مجاورت غشای میتوکندری‌ها با *ROS* موجب شده تا ژنوم میتوکندری ۱۰ برابر بیشتر از ژنوم هسته‌ای (*ndDNA*) در معرض آسیب‌های اکسایشی قرارگیرد (۸، ۱۰ و ۲۷). در همین مورد، محققان طی دو دهه 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 دهه 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*^۵ ادرار، مالون دی آلدئید (*MDA*)، پروتئین کربونیل شده (*CP*)، لاکتات دهیدروژناز (*LDH*) و کراتین کیناز (*CK*) خون

1- Base Pair

2- Harman

3- Reactive Oxygen Species

4- Linnance et al

5- 8-hydroxydeoxyguanosine

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

موراکامی^۱ (۱۹۹۵) و ایوائی^۲ (۲۰۰۳) نشان دادند که افزایش قابل توجه مصرف اکسیژن میتوکندریایی در هنگام ورزش می‌تواند به علت 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، مطالعه میدانی^۳ 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^۴ (۲۰۰۰) نیز اشاره کردند که فعالیت‌های بدنی یکی از منابع اصلی تولید بنیان‌های آزاد و استرس اکسایشی است (۲۹). ساکایی و همکارانش^۵ (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^۶ 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 پدیده 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

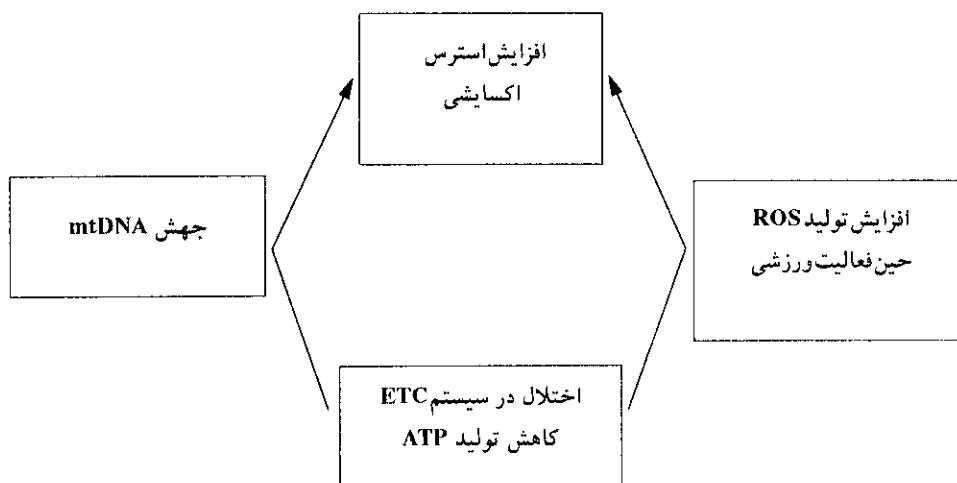
3- Meydani et al

4- Reznick et al

5- Sakai et al

6- Common deletion

موجب بروز جهش *mtDNA* عضله نعلی موش‌های صحرایی گردد. به علاوه، تمرینات هوازی با شدت متوسط نیز در بروز جهش ژنوم میتوکندریایی عضله نعلی هیچ‌گونه دخالتی ندارد، اما تمرینات هوازی شدید می‌تواند سبب بروز حذف ۴/۶ کیلو بازی در *mtDNA* عضله 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 - رابطه 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 درباره نقش استرسی اکسایشی ناشی از فعالیت‌های بدنی در بروز آسیب‌های *mtDNA* و همچنین اهمیت آن در بروز فرایند پیری و بیماری‌های استحال‌ای، بر آن شدیم تا رابطه بین تغییرات لاکتات و حذف ژنوم میتوکندریایی لکوسیت‌های خون انسان را پس از شرکت در فعالیت وامانده ساز مورد بررسی قرار دهیم.

روش تحقیق

مطالعه حاضر به صورت نیمه تجربی یک گروهی پیش‌آزمون - پس‌آزمون انجام شد. در زمینه اهداف تحقیق، ۴۰ دانشجوی مرد سالم و غیرورزشکار، پس از پر کردن برگه‌های مربوطه، به‌طور داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. هیچ‌یک از آزمودنی‌ها سابقه مصرف سیگار، داروهای خاص و شرکت در فعالیت‌های ورزشی منظم نداشتند. میانگین سن، قد، وزن و توده بدون چربی بدن آزمودنی‌ها (با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری ترکیب بدن^۱) به ترتیب $21/3 \pm 1/5$ سال، $176 \pm 5/4$ سانتی‌متر، $74/2 \pm 14$ کیلوگرم، $9/6 \pm 60$ کیلوگرم بود. هر یک از آزمودنی‌ها پس از گرم کردن اولیه، بر روی دوچرخه کارسنج (دوچرخه تنتوری^۲ مدل E433 ساخت کشور فنلاند) به مدت ۵ دقیقه با سرعت ثابت ۶۰ دور در دقیقه و بار کار اولیه 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 وامانده ساز، ۵ میلی‌لیتر خون سیاهرگی در وضعیت نشسته از آرنج راست هر یک از آزمودنی‌ها گرفته شد. به هر یک از نمونه‌های خونی تهیه شده ۵/۰ میلی‌لیتر محلول نیم مولار *EDTA* اضافه شد و در شرایط کنترل شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شد.

لاکتات خون نیز در قبل و بعد از فعالیت و امانده ساز به وسیله لانتست 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 تهیه 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:

Taq	ONP _{۸۶}	ONP _{۸۹}	ONP _{۷۴}	ONP _{۲۵}	DNA	dNTP	PCR	H _۲ O
۰/۵ u	۱۰ ρmol/μl	۱۰ ρmol/μl	۱۰ ρmol/μl	۱۰ ρmol/μl	۵۰ ng/μl	۱۰ mmol	buffer ۱۰x +MgCl _۲	
۱ μl	۱ μl	۱ μl	۱ μl	۱ μl	۱ μl	۰/۷ μl	۲/۵ μl	۱۵/۸ μl

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

نام آغازگر	موقعیت نوکلئوتیدی	ژن	توالی آغازگر
ONP _{۸۶}	LF ۵۲۶۱ - ۵۲۸۰	NDs	۵'-CCCTTACCACGCTACTCCTA-۳'
ONP _{۸۹}	HB ۵۷۴۰ = ۵۷۲۱	OL	۵'-GGCGGGAGAAGTAGATTGAA-۳'
ONP _{۲۵}	LF ۹۱۶۱ - ۸۱۸۰	COII	۵'-CTACGGTCAATGCTCTGAAA-۳'
ONP _{۷۴}	HB ۱۳۶۴۰ - ۱۳۶۲۱	ND۵	۵'-GGTTGACCTGTTAGGGGTGAG-۳'

برنامه *Multiplex PCR* به صورت زیر انجام شد:

تعداد چرخه‌ها^۱ ۳۵ دور: - واسرشتی^۲ اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه؛ - واسرشتی ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه؛ - اتصال^۳ ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱

1- Cycles

2- Denaturation

3- Annealing

دقیقه؛ - طولیل شدن^۱ ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه؛ - طولیل شدن نهایی ۷۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه

پس از اتمام برنامه PCR، همه 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 ۲۷۹bp 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 رابطه بین جهش mtDNA و افزایش لاکتات خون، از ضریب همبستگی کندال استفاده شد. تمام عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای Sps و Excel انجام شد.

نتایج و یافته‌های تحقیق

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

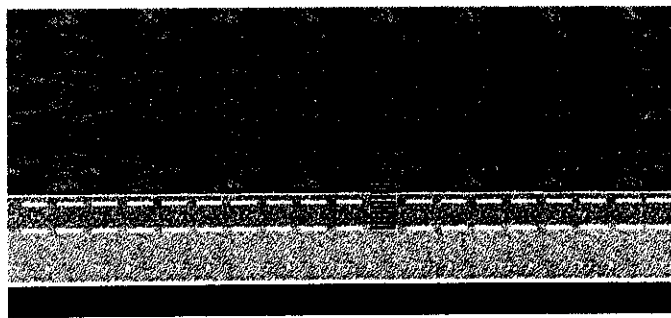
جدول ۱ - ویژگی‌های فردی و زمان واماندگی آزمودنی‌ها

آزمودنی‌ها	سن (سال)	قد (cm)	وزن (kg)	درصد چربی	توده بدون چربی (kg)	BMI (kg/m ²)	زمان واماندگی (دقیقه)
۴۰	۲۱/۳ ± ۱/۵	۱۷۶ ± ۵/۴	۷۴/۲ ± ۱۴	۱۷/۹ ± ۶/۱	۶۰ ± ۹/۶	۲۳/۷ ± ۴	۲۵/۴ ± ۳/۸

جدول ۲ - میزان لاکتات خون در پیش و پس از آزمون

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

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



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

نتایج آزمون خی دو ($\chi^2 = 12/1$) نشان می‌دهد که جهش مشاهده‌شده در پس آزمون از نظر آماری معنی‌دار است ($P < 0/01$).

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون t همبسته ($t = 15/33$) نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P < 0/001$) در مقادیر لاکتات خون در قبل و بعد از فعالیت و امانده‌ساز است. با وجود اینکه لاکتات خون در هر ۹ مورد جهش *mtDNA* آزمودنی‌ها در بعد از فعالیت و امانده‌ساز افزایش یافته، اما در موارد غیر جهش‌یافته *mtDNA* نیز افزایش معنی‌دار لاکتات مشاهده می‌شود. بنابراین تجزیه و تحلیل آماری حاصل از آزمون ضریب همبستگی کندال در هیچ یک از موارد زیر رابطه 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 - پس آزمون لاکتات خون

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

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

بحث و نتیجه گیری

در بسیاری از تحقیقات انجام شده تا سال ۲۰۰۰، استخراج *mtDNA* از طریق بیوپسی بافت های حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته است. با توجه به دردناک و ناخوشایند بودن این روش ها در انسان، ون اسن^۱ و همکارانش (۲۰۰۰) با نشان دادن وجود همبستگی قوی لکوسیت ها (۱۲)، اقل های تازه ای را برای انجام مطالعات مذکور در انسان نمایان ساختند. به طوری که طی سال های اخیر مطالعات انسانی بیشتری در مورد استرس اکسایشی ناشی از فعالیت شدید بدنی و آسیب های *mtDNA* صورت گرفته است. با وجود این هنوز پژوهش هایی که رابطه *mtDNA* و استرس اکسایشی را مشخص می سازند، 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 آزمودنی ها، در حالت استراحت (قبل از انجام فعالیت و امانده ساز)، نشان می دهد. این یافته ها با توجه به دامنه سنی و شرایط طبیعی آزمودنی ها قابل پیش بینی بود، زیرا حذف 5kb ژنوم میتوکندریایی از جمله جهش های شناخته شده ای است که با افزایش سن در بیشتر بافت های یکری تجمع پیدا می کند (۲۸). با وجود این به منظور اطمینان کامل از عدم وجود چنین جهشی، قبل از شروع فعالیت و امانده ساز نیز تمامی آزمودنی ها از این نظر مورد بررسی قرار گرفتند تا در صورت وجود جهش احتمالی

mtDNA در برخی از نمونه‌های خونی، آزمودنی‌های مذکور از تحقیق خارج شوند. فعالیت وامانده‌ساز بر روی دوچرخه کارسنج موجب بروز جهش *mtDNA* در ۹ نفر از آزمودنی‌های تحقیق شد. این یافته با نتایج مطالعات ساکائی (۱۹۹۹)، ایوانی (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. ایوانی و همکارانش (۲۰۰۳) گزارش کردند که ۳۰ دقیقه رکاب زدن بر روی دوچرخه کارسنج با شدت ۶۰ - ۵۰ وات و با سرعت ۶۰rpm 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 ۱۸-۲۰ 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 عضله اسکلتی موش‌های صحرایی گردد و این جهش فقط بعد از انجام یک دوره 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.

مقایسه 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 ضد اکسایشی در

آزمودنی هایی که جهش *mtDNA* در آنان دیده نشده نیز می تواند توجیه مناسب تری را ارائه کند.

به طور کلی می توان گفت که یک وهله فعالیت بدنی هوازی تا حد واماندگی می تواند موجب حذف *5kb* در *mtDNA* افراد غیرورزشکار شود. از طرفی افزایش لاکتات خون نمی تواند عامل توجیه کننده این جهش باشد و احتمالاً سایر عوامل ناشناخته تأثیری مشابه یا حتی قوی تر از ورزش بر جهش *mtDNA* دارند.

منابع و مآخذ

- ۱- جعفری، افشار. "تأثیر تمرینات هوازی با شدت های مختلف بر حذف *mtDNA* عضله نعلی موش های صحرايي"، رساله دکترا، دانشگاه تهران. ۱۳۸۲.
- ۲- جعفری، ا. هوشمند، م. شفا، م. رستمی، م. دهقان، م. اوجاقي، ا. گودرزی، ا. "تأثیر آزمون های ورزشی هوازی و بی هوازی بر آنزیم های سرمی و حذف *mtDNA* لکوسیت های خون انسان"، ششمین همایش تربیت بدنی و علوم ورزشی، اصفهان، ۱۳۸۳.
- ۳- حامدی نیا، محمدرضا. "اثر تمرینات هوازی، ویتامین ای و ورزش وامانده ساز بر استرس اکسایشی در دانشجویان ورزشکار"، رساله 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. Houshamand. "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. Houshamand, "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- Linnane, 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: *bioenergy 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.