دکتر حمزه اکبری ۱

دکتر محمد جواد ملکی ۲*

دکتر علی اصغر رواسی ۳

دکتر محمدرضا کردی ۴

دکتر عبدالخالق دیزجی ۵

دکتر سید مجتبی میری ۶

دکتر محمد حسین ملکی ۷

۱- استادیار فیزیولوژی ورزشی، پژوهشگاه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی

۲- فوق تخصص جراحی قلب و توراکس

۳- استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۵- دانشیار بیوشیمی و ژنتیک، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک

۶- دانشیار گروه جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۷- کایروپراکتر، پژوهشگر

* **نشانی نویسنده مسؤول:** تهران، بلوار آفریقا، بین چهار راه جهان کودک و پل میرداماد، خیابان دیدار، نبش پدیدار، پلاک ۱، طبقه ۲، کلینیک درمان غیرتهاجمی بیماران قلبی

تلفن: ۰۹۱۲۲۲۶۳۸۰۹ - ۸۸۸۸۵۶۳۸

نشانی الکترونیکی:

h_akbari258@yahoo.com

مجله علمی سازمان نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران، دوره ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲: ۳۱۵-۳۲۸

- **مقاله تحقیقی کد مقاله: ۳۲**

تأثیر یک دوره تمرینات استقامتی با هدف ممانعت از پیری سلولی بر فعالیت آنزیم تلومر از بافت قلب و لنفوسیت‌های خون محیطی رتهای نر

چکیده

زمینه: هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۱۶ هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر محتوی آنزیم تلومر از بافت قلب و لنفوسیت‌های خون محیطی رتهای نر بود.

روش کار: بدین منظور رتهای تهیه شده از انستیتوی پاستور ایران به صورت تصادفی به دو گروه کنترل (n=۸) و ورزشی (n=۸) تقسیم شدند. مدت زمان دو هفته برای سازگاری با محیط و تغییر ریتم‌های بیولوژیک (هفته اول) و آشنایی با تردمیل (هفته دوم) در نظر گرفته شد. پس از گذشت دو هفته پروتکل اصلی، شامل یک جلسه فعالیت استقامتی در روز به مدت پنج روز در هفته شروع شد. گروه تجربی به مدت ۱۶ هفته تحت تأثیر تمرینات استقامتی با شدت متوسط قرار گرفتند. در طول هشت هفته اول سرعت تردمیل از ۱۲ متر در دقیقه به ۲۵ متر دقیقه و زمان از ۱۵ دقیقه به ۵۰ دقیقه رسید و این شدت تمرین در طی هشت هفته دوم ثابت نگه داشته شد. پس از اتمام دوره در حالت ناشتا و روز بعد از آخرین جلسه تمرین نمونه‌های مورد نیاز از رتها جمع‌آوری شدند.

یافته‌ها: داده‌های به دست آمده از روش ELISA-PCR نشان داد، میزان جذب تلومراز بافت قلبی در پایان دوره، در گروه کنترل، ۰.۰۷ ± ۰.۲۲ و در گروه ورزش ۰.۰۵ ± ۰.۳بود. اختلاف مشاهده شده بین دو گروه از لحاظ آماری معنادار بود (P = ۰.۰۴). همچنین میزان جذب تلومراز لنفوسیت‌های خون محیطی در پایان دوره، در گروه کنترل، ۰.۰۰۸ ± ۰.۰۱۲ و در گروه ورزش ۰.۰۰۳ ± ۰.۰۲۶ بود. اختلاف معناداری بین دو گروه مشاهده شد (P = ۰.۰۳).

نتیجه‌گیری: به طور کلی می‌توان پیشنهاد داد که فعالیت بدنی منظم با شدت متوسط (۶۵-۶۰٪max۲Vo) منجر به فعال‌سازی آنزیم تلومراز و تثبیت طول تلومر می‌شود و ورزش و فعالیت بدنی از طریق افزایش فعالیت تلومراز در بافت‌های بدن می‌تواند قابلیت زیست سلول، ثبات ژنتیک را بالا ببرد و اثرات ضد پیری خود را بگذارد.

واژگان کلیدی: فعالیت بدنی طولانی مدت، پیری، تلومر، فعالیت تلومراز

مقدمه

پیری سلولی[1] یکی از اساسی‌ترین مراحل در رفتار سلول به حساب می‌آید که تصور می‌شود نقش بسیار مهمی در تنظیم طول عمر سلول به عهده دارد [۱]. فرآیند تکثیر و رشد سلول‌های سوماتیک اولیه در شرایط آزمایشگاهی[2] محدود می‌باشد. در واقع، بعد از یک دوره سریع تکثیر، میزان تقسیم سلولی کُند می‌شود و سلول ها به هم نزدیک می‌شوند و به محرک‌های میتوژنیک پاسخ نمی‌دهند. این فرآیند اصطلاحاً «پیری سلولی یا عدم فعالیت سلولی» نامیده می‌شود. سلول پیر ویژگی‌های خاصی را به خود می‌گیرد که از جمله مهم‌ترین آنها می‌توان به افزایش اندازه سلول، مورفولوژی مجزا، تجمع گرانول‌های لیپوفیوسین[3]، تغییرات گسترده در بیان ژنی و کوتاه شدن طول تلومر اشاره داشت [۴،۳،۲]. «تلومر» ساختار انتهایی کروموزوم در یوکاریوت‌ها است که وظیفه حیاتی حفاظت از انتهای کروموزوم را بر عهده دارد [۶،۵]. در انسان و مهره‌داران تلومر از هزاران تکرار ۵'-TTAGGG-۳' که به شکل پشت سر هم در انتهای کروموزوم قرار دارند، تشکیل شده است و وظیفه اصلی آن حفاظت و پایداری کرموزوم می‌باشد [۸،۷]. در هر تقسیم سلولی به شکل پیوسته بخشی از درازای تلومر کوتاه می‌شود، کوتاه شدن پیوسته تلومر به جدا شدن یک سری از پروتئین‌ها از ساختار تلومر و تغییر بیان ژن منجر می‌شود و از طرفی کوتاه شدن تلومر موجب کاهش قلمرو اثر آن در سرکوب ژن‌های مجاور می‌گردد و ژن‌هایی که تاکنون خاموش بوده‌اند، روشن می‌شوند. همچنین کوتاه شدن مداوم تلومر به توقف چرخه سلولی و مرگ سلولی می‌انجامد [۱۱،۱۰،۹]. سه مکانیسم کلی برای افزایش درازای تلومر در موجودات یوکاریوت وجود دارد، مکانیسم غالب استفاده از آنزیم تلومراز است. «تلومراز» یک آنزیم ترانسکریپتاز معکوس است که با اضافه کردن توالی تکراری TTAGGG، مانع کوتاه‌شدن تلومر می‌شود و بدون نیاز به الگو موجب سنتز تلومر می‌شود. در واقع یک آنزیم ریبونکلئو پروتئینی به حساب می‌آید که از اجزای RNA درونی خودش به عنوان یک الگو به منظور سنتز DNA انتهای کروموزوم‌ها در جریان تقسیم سلولی استفاده می‌کند [۱۳،۱۲]. یافته‌ها نشان می‌دهد که از بین عوامل مؤثر بر طول تلومر و فعالیت آنزیم تلومراز ظاهراً فعالیت بدنی منظم نقش مهمی را ایفاء می‌کند [۱۶،۱۵،۱۴]. انجمن قلب ایالات متحده مطالعه جدیدی را در این زمینه انجام داده و پیشنهاد دادند که فعالیت بدنی طولانی مدت از طریق تأثیر بر کروموزوم‌ها در نبرد با فرآیند پیری برمی‌آید [۱۸،۱۷]. در آغاز سال ۲۰۰۸، گروه‌های تحقیقاتی متعددی ارتباط بین فعالیت بدنی و طول تلومر و فعالیت تلومراز را در انسان مورد بررسی قرار دادند. طول تلومر در عضلات اسکلتی مردان و زنان فعال و غیرفعال در دو گروه سنی جوان و پیر (پون سوت و همکاران[4])، تغییرات تلومر و آنزیم تلومراز در پاسخ به فعالیت‌های مقاومتی نظیر پاورلیفترهای رقابتی و تفریحی (کادی و همکاران[5]) در سال ۲۰۰۸ انجام گرفتند [۲۰،۱۹]. پون سوت و همکاران هیچ ارتباطی بین فعالیت ورزشی منظم با شدت متوسط و کوتاهی طول و فعالیت تلومراز مشاهده نکردند [۲۱]. علاوه بر مطالعات انسانی روی حیوانات نیز تحقیقات گسترده‌ای در زمینه نقش فعالیت بدنی بر بیولوژی تلومر و تلومراز انجام گرفته، ورنر و همکاران (۲۰۰۸) اثرات دویدن ارادی روی چرخ دوار[6] را بر میزان فعالیت تلومراز، طول تلومر، IGF-۱ و eNOS سلول‌های عضلانی بافت قلب موش‌ها مورد بررسی قرار داد [۲۲]. یک سال بعد، ورنر و همکاران (۲۰۰۹) بار دیگر نشان دادند که تمرینات ورزشی فعالیت آنزیم تلومراز، پروتئین‌های متصل شده به تلومر و بیان mRNAی آنها را افزایش

1- Cellular senescence

2- In vitro

3- Accumulated lipofuscin granules

4- Ponsot, et al

5- Kadi, et al

6- Voluntary wheel running

و سطوح Chk۲، p۵۳ و p۱۶ را در آئورت موش‌ها کاهش داده است [۲۳]. لودلوو و همکاران[۷] (۲۰۱۲) در مطالعه‌ای به بررسی اثرات ورزش طولانی مدت (یک ساله) بر فعالیت آنزیم تلومراز و دینامیک تلومر در رتهای هشت هفته‌ای پرداختند. نتایج نشان داد که فعالیت تلومراز در عضلات اسکلتی گروه ورزش در مقایسه با گروه کنترل بی‌تحرک افزایش پیدا کرد اما در بافت کبدی و قلب بین دو گروه تغییرات معناداری مشاهده نشد [۲۴].

به طور کل نتایج به دست آمده از مطالعات انجام گرفته در زمینه بیولوژی تلومر، فعالیت تلومراز و نقش ورزش بر آنها نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی یک محرک قوی برای سیستم تلومری به حساب می‌آید و این اثرات تنها زمانی مشاهده می‌شود که مدت زمان تمرینات ورزشی طولانی باشد، اما علاوه بر مدت زمان جلسات تمرینی و دوره تمرینی، پروتکل و شیوه افزایش بار طی جلسات تمرینی نیز از اهمیت خاصی برخوردار است، تا نهایتاً پروتکل‌های تمرینی قابل تعمیمی ارائه داده شوند. در زمینه تأثیر فعالیت‌های ورزشی مختلف روی طول تلومر، فعالیت تلومراز و فرآیند پیری مطالعات گسترده‌ای انجام گرفته، اما با این وجود نتایج به دست آمده با هم همسو نبوده که شاید دلیل آن اختلاف در متدولوژی و نمونه‌های مورد استفاده باشد و سؤالات زیادی در این زمینه مطرح است. بنابراین با توجه به بررسی پیشینه تحقیق حاضر و فرضیه‌های موجود و نهایتاً به دلیل عدم در دسترس بودن اطلاعات کافی در مورد نقش فعالیت‌های ورزشی روی فرآیند پیری، در این تحقیق سعی بر آن شد که تأثیر یک دوره تمرینات استقامتی ۱۶ هفته‌ای با شدت متوسط (۶۰-۶۵ ٪ max۲Vo) را روی فعالیت آنزیم تلومراز در بافت قلب و لنفوسیت‌های (بالغ) خون محیطی در رتهای نر مورد بررسی قرار گیرد.

روش کار

روش‌شناسی تحقیق

روش تحقیق حاضر از نوع تجربی می‌باشد که در آن تأثیر یک دوره تمرینات استقامتی ۱۶ هفته‌ای بر فعالیت آنزیم تلومراز در بافت‌های مختلف رتهای نر مورد بررسی قرار می‌گیرد.

آزمودنی‌ها و طرح تحقیق

تعداد ۲۰ سر رت نر ویستار دو ماهه از مؤسسه پاستور ایران خریداری شد. سپس مطابق با دستورالعمل انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی در حیوان‌خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران در ۲۰ قفس به صورت جداگانه نگهداری شدند. این حیوانات در سیکل شبانه فعال هستند و غذا می‌خورند و در سیکل روزانه به استراحت، خواب و هضم غذا مشغول هستند. بررسی‌های اولیه نشان داد که تغییر سیکل تاریکی به روشنایی (فعالیت ورزشی در روز) باعث تغییر ریتم ادراری و تغییر فیزیولوژیک بدن حیوان خواهد شد و برای سازش با این تغییر تقریباً دو هفته زمان لازم است، لذا در مطالعه حاضر نیز مدت زمان دو هفته، هفته اول برای آشنایی با محیط آزمایشگاه و هفته دوم برای آشنایی با تردمیل (روزانه به مدت ۱۰-۸ دقیقه و با سرعت ۱۵-۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر درصد) در نظر گرفته شد. از همان روز اول چرخه روشنایی تاریکی (۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت ۵۰٪ و درجه حرارت ۲۲°C رعایت شد. رتها طی این مدت دسترسی آزاد به آب دارند. پس از گذشت ۲ هفته پروتکل اصلی تمرین شروع شد. به این صورت که ابتدا تعداد ۱۶ سر رت نر را در دو گروه هشت‌تایی، گروه کنترل و گروه تجربی (تمرینات استقامتی) قرار دادیم. گروه تجربی به مدت ۱۶ هفته تحت تأثیر تمرینات

7- Ludlow, A.T, et al

استقامتی با شدت متوسط یک جلسه در روز قرار گرفتند. پس از اتمام دوره در حالت ناشتا و روز بعد از آخرین جلسه تمرین نمونه‌های مورد نیاز از رتها جمع آوری شدند و به منظور آنالیز به پژوهشگاه مهندسی ژنتیک واقع در شهرک پژوهش انتقال داده شدند.

نمودار ۱- نمودار شماتیکی طرح و زمان‌بندی تحقیق

پروتکل فعالیت ورزشی

رتهای گروه تمرینی پنج روز در هفته (شنبه تا چهارشنبه) به مدت ۱۶ هفته بر روی تردمیل یک فعالیت استقامتی با شدت متوسط انجام دادند. همانطور که در نمودار ۱ نشان داده شده پروتکل تمرینی شامل پنج روز آشناسازی حیوان با محیط و دستگاه تردمیل با سرعت ۱۲-۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر درصد به مدت ۱۰ دقیقه می‌باشد که به صورت روزانه ۵ دقیقه به مدت تمرین اضافه شد تا به مدت ۵۰ دقیقه برای گروه تمرین رسید. در ابتدای هر جلسه آزمودنی ها به منظور گرم کردن سه دقیقه با سرعت هشت متر در دقیقه دویدند، سپس هر دقیقه به سرعت دستگاه دو متر در دقیقه افزوده شد تا به سرعت مورد نظر برسند. در انتهای هر جلسه تمرینی برای سرد کردن رتها سرعت دستگاه به آرامی کاسته شد تا به حدود ۱۰ متر در دقیقه برسد (در حدود پنج دقیقه) [۱].

ابزار اندازه‌گیری و روش جمع‌آوری اطلاعات

در مطالعه حاضر ابتدا میزان پروتئین بافت‌های مورد نظر با استفاده از «روش برادفورد» سنجیده شد (نمودار ۲). سپس میزان محتوی تلومراز در بافت‌های منظور بر حسب میزان پروتئین بافت اندازه‌گیری شد. به همین منظور از کیت Kit Elisa Telomerase Rat، شرکت CUSABIO برای سنجش محتوی تلومراز و «تکنیک سنجش ایمنی ساندویچ الایزا[8]» که یک روش کمی می‌باشد، استفاده شد. داخل میکروپلیت‌های کیت مورد نظر پوشیده از آنتی بادی ویژه تلومراز بود. در این روش تمامی نمونه‌ها و محلول استاندارد به داخل ولها پیپت می‌شود و تلومراز موجود در نمونه‌ها در کف ولها به آنتی‌بادی ویژه می‌چسپد. مراحل آماده‌سازی بافت قلب به منظور سنجش میزان محتوی تلومراز به شرح زیر می‌باشد:

همگن کردن و آماده کردن بافت[9]:

ابتدا مقداری از بافت را با تیغ جراحی جدا کرده (۱۰۰ mg) و سپس با یک میلی‌لیتر PBS X۱ در داخل میکروتیوب هموژنیزه کردیم. بعد از Vortex بافت به مدت یک شب در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. بعد از دو چرخه فریز تاو شدن غشاء سلول‌های بافت شکسته شد و هموژنایز موجود در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ g سانتریفیوژ را انجام دادیم. سپس محلول رویی از میکروتیوب‌ها بلافاصله برداشته شد و سوسپانسیون موجود مورد ارزیابی قرار گرفت و یا در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان مورد نظر نگه داشته شد.

تهیه استاندارد و رسم منحنی استاندارد برای تلومراز:

8- Quantitative sandwich enzyme immunoassay technique

9- Tissue homogenates

ریختن مقدار ۲۵۰ µl از محلول رقیق‌کننده به هر کدام از میکروتیوب‌ها (S۰-S۶)، ۲. پیپت کردن ۲۵۰ µl از محلول استاندارد به S۶ و خارج کردن همان مقدار از S۶ و انتقال آن به S۵ و به همیت ترتیب بعد از هر پیپت کردن مقدار مورد نظر را به میکروتیوب بعدی انتقال داده تا به S۱ (۵۰۰ µl) برسیم (جدول۲). برای رسم منحنی استاندارد از نرم‌افزار حرفه‌ای Exert Curve ۱.۳ (طبق پیشنهاد کیت) استفاده شد (نمودار۳). پس از آماده‌کردن بافت‌های مورد نظر و استاندارد لازم، پرتکل سنجش محتوی تلومراز به شرح زیر انجام گرفت (جدول۳).

روش جداسازی لنفوسیت:

برای اندازه‌گیری و جداسازی لنفوسیت‌ها از خون محیطی از فایکول (Ficolle) استفاده شد. در این روش خون با ماده‌ای مخلوط می‌شود که باعث تجمع سلول های قرمز خون و در نتیجه افزایش سرعت رسوب آنها می‌گردد و بنابراین لنفوسیت‌ها از لایه بالای سلول‌های قرمز، جمع‌آوری می‌گردد. مراحل این روش به این صورت می‌باشد:

۱- تهیه ۵ ml خون حاوی ماده ضد انعقاد (ACD،EDTA)

۲- اضافه کردن ۵ ml نرمال سالین سرد (۸/۵l/g) به خون.

۳- تهیه ۳ ml فایکول در یک لوله سانتریفیوژ تمیز

۴- تهیه ۸-۵ ml خون رقیق شده با نرمال سالین سرد را به آرامی بر روی فایکول اضافه کردیم.

۵- لوله حاوی فایکول و خون را به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانترفیوژ شد.

۶- لایه حاوی لنفوسیت‌ها را به آرامی جدا نموده و به یک لوله سانترفیوژ تمیز منتقل شد.

۷- معادل حجم لنفوسیت‌های جدا شده نرمال سالین سرد اضافه نموده، به مدت ۵ دقیقه در دور ۲۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شد.

۸- مایع روی سلول‌های پک شده را بیرون ریخته مقدار ۰/۵ نرمال سالین سرد به سلول‌ها بیفزائید، سوسپانسیون سلولی را تا مرحله ارزیابی در دمای ۸۰- نگهداری کنیم.

روش‌های آماری

از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) برای توصیف داده‌ها و برای رسم نمودار از برنامه Excel و Exert Curve ۱.۳ استفاده شد و کلیه عملیات آماری توسط نرم‌افزار SPSS و انجام و سطح معنی‌داری ($p\geq ۰.۰۵$) در نظر گرفته شد. در ادامه با استفاده از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف نرمال بودن توزیع آنها بررسی شد. با توجه به اینکه داده‌ها از توزیع نرمال برخوردار بودند، برای مقایسه بین دو گروه از آزمون تی مستقل استفاده شد. با توجه به اینکه رتهای مورد آزمایش در دو گروه، ویژگی‌های یکسانی داشتند و شرایط نگهداری کاملاً مشابه داشتند، لذا نمونه‌های اولیه جهت اندازه‌گیری محتوی تلومراز در گروه کنترل گرفته نشد و فقط نمونه‌های پایانی در دو گروه مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار آنزیم تلومراز و میزان پروتئین استخراج شده در بافت قلب گروه کنترل به ترتیب ml/pg ۳۲۳۴ ± ۱۹۴۳۷ و ml/mg ۲.۷ ± ۱۲.۰۱ و در گروه ورزشی به ترتیب ml/pg ۴۲۴۶ ± ۳۰۱۹۲ و ml/mg ۱.۸۲ ± ۱۳.۱۶ بود که بر حسب میزان پروتئین بافت، محتوی آنزیم تلومراز در گروه کنترل حدوداً pro mg/pg ۴۶۸ ± ۱۵۷۶ و در گروه ورزشی pro mg/pg ۳۳۳ ± ۲۲۶۴ به دست آمد. سرانجام در مرحله آخر فعالیت آنزیم تلومراز بافت قلبی

مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های به دست آمده از روش ELISA-PCR نشان داد، میزان جذب تلومراز بافت قلبی در پایان دوره، در گروه کنترل، ۰.۰۷ ± ۰.۲۲ و در گروه ورزش ۰.۰۵ ± ۰.۳ بود. اختلاف مشاهده شده بین دو گروه از لحاظ آماری معنادار بود (P = ۰.۰۴). برای مقایسه بهتر داده‌ها، میزان جذب تلومراز گروه کنترل را به عنوان میزان پایه، ۱۰۰ درصد در نظر گرفتیم، سپس میزان فعالیت تلومراز در گروه ورزشی به صورت درصدی از گروه کنترل محاسبه شد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد، فعالیت آنزیم تلومراز بافت قلب در انتهای دوره در گروه ورزشی ۳۶ درصد بالاتر از گروه کنترل می‌باشد. یافته‌های آماری نشان داد که بین گروه کنترل و ورزشی در فعالیت تلومراز بافت قلب در پایان یک دوره فعالیت استقامتی با شدت متوسط اختلاف معناداری وجود دارد (۰/۰۴= p)، جدول (۴).

تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از لنفوسیت‌های خون محیطی نشان داد که میانگین و انحراف معیار آنزیم تلومراز و میزان پروتئین استخراج شده در گروه کنترل به ترتیب ml/pg ۵۷.۴ ± ۲۸۸ و ml/mg ۰.۵۸ ± ۳.۱ و در گروه ورزشی به ترتیب ml/pg ۱۷۸ ± ۸۳۳ و ml/mg ۱.۲ ± ۳.۴ بود که بر حسب میزان پروتئین بافت، محتوی آنزیم تلومراز در لنفوسیت‌های خون محیطی گروه کنترل حدوداً pro mg/pg ۱۹.۲ ± ۱۰۰ و در گروه ورزشی pro mg/pg ۵۳ ± ۱۹۹ به دست آمد. در نهایت در مرحله آخر فعالیت آنزیم تلومراز لنفوسیت‌های خون محیطی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های به دست آمده از روش ELISA-PCR نشان داد، میزان جذب تلومراز در این سلول‌ها در پایان دوره، در گروه کنترل، ۰.۰۰۸ ± ۰.۰۱۲ و در گروه ورزش ۰.۰۰۳ ± ۰.۰۲۶ بود. یافته‌های آماری نشان داد که بین گروه کنترل و ورزشی در فعالیت تلومراز لنفوسیت‌های خون محیطی در پایان یک دوره فعالیت استقامتی با شدت متوسط اختلاف معناداری وجود دارد (۰/۰۳= p)، جدول (۴).

بحث و نتیجه‌گیری

محتوی و فعالیت تلومراز تحت تأثیر استرس‌های اکسیداتیو مختلفی قرار می‌گیرد و ممکن است به صورت افزایشی و یا کاهشی تنظیم[10] شود [۲۵،۱۰]. از بین این استرس‌ها، فعالیت ورزشی و سرطان‌های مختلف بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند [۲۷،۲۶]. اثرات ورزش و فعالیت بدنی بر فعالیت تلومراز هنوز ناشناخته‌اند، در حالی که اثرات سرطان به خوبی آشکار شده‌اند. لاوفس و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند که فعالیت بدنی منظم منجر به فعال‌سازی آنزیم تلومراز و تثبیت طول تلومر می‌شود. از طرف دیگر نشان داده شده کاهش توانایی بدن در حفظ طول تلومر ارتباط مستقیم با افزایش خطر بیماری‌های قلبی- عروقی دارد [۲۹،۲۸،۱۱]. لذا ورزش و فعالیت بدنی با شدت‌های خاص می‌تواند به عنوان یک نسخه درمانی ویژه همراه با روش‌های درمانی دیگر به درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی- عروقی و کیفیت بهتر زندگی در دوران میانسالی و سالمندی کمک کند [۳۰،۲۵،۱۲]. هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرینات استقامتی با هدف ممانعت از پیری سلولی بر محتوی آنزیم تلومراز بافت قلب و لنفوسیت‌های خون محیطی رتهای نر بود. در بسیاری از مطالعات فعالیت تلومراز به عنوان یک شاخص قوی‌تر از طول تلومر جهت بررسی قابلیت زیست سلول[11] یا ثبات ژنتیکی[12] و فرآیند بیماری‌ها معرفی شده است [۳۲،۳۱]. در پژوهش حاضر میزان محتوی تلومراز بافت قلب و لنفوسیت‌ها در گروهی که یک دوره فعالیت ورزشی استقامتی را پشت سر گذرانده بودند، بیشتر از گروه کنترل بود. به نظر می‌رسد که فعالیت بدنی منظم موجب افزایش فعالیت و محتوی تلومراز در بافت قلب شده است. ورنر و همکاران در مطالعه‌ای مشابه (۲۰۰۸) نشان دادند که

- [10] Up and down regulation

- [11] Cellular viability

- [12] Genomic stability

دویدن ارادی روی چرخ دوار[۱۳] اثرات محافظتی بر سلول‌های عضلانی بافت قلب موش‌ها دارد. آنها بر این باورند که فعالیت بدنی از طریق افزایش پروتئین‌های متصل شده به تلومر (شلترین[۱۴]) و افزایش فعالیت آنزیم تلومراز با واسطه‌گری جزء پروتئینی تلومراز TERT، IGF-۱ و eNOS[۱۵] می‌تواند اثرات محافظتی و مفید خود را بر تلومر بگذارد، نتایج آنها همسو با نتایج پژوهش حاضر است [۲۳].

رین بوو و همکاران[۱۶] (۲۰۱۲) در مطالعه‌ای به بررسی نقش ورزش کیوگونگ[۱۷] بر علائم خستگی، عملکرد و فعالیت تلومراز در افرادی با خستگی مزمن یا مبتلا به سندرم خستگی مزمن پرداختند. نتایج نشان داد که علائم خستگی و عملکرد ذهنی در گروهی که این ورزش را انجام دادند در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری بهبود پیدا کرد. میزان فعالیت تلومراز نیز در گروه ورزش افزایش پیدا کرد که با نتایج پژوهش حاضر همسو بود [۳۳]. برخی دیگر از مطالعات عدم تغییر فعالیت تلومراز در بافت قلبی به دنبال یک دوره تمرینات ورزشی طولانی مدت را گزارش کردند. ماتیو و همکاران[۱۸] (۲۰۱۱) گزارش دادند که بیان mRNA شلترین در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و سلول‌های عضلانی به دنبال یک مسابقه دویدن التراماراتون افزایش داشته است. میانگین طول تلومر در عضلات اسکلتی تغییری نیافت و همچنین میزان بیان hTERT یا همان فعالیت تلومراز نیز در این عضلات تغییرات قابل ملاحظه‌ای نداشت که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد [۷]. لوودلاو و همکاران (۲۰۱۲) افزایش فعالیت تلومراز در عضلات اسکلتی و عدم تغییر فعالیت تلومراز در بافت قلب و کبد را به دنبال یک دوره تمرینات استقامتی طولانی مدت گزارش دادند. نتایج نهایی تحقیق آنها نشان داد که ورزش و فعالیت بدنی می‌تواند سرعت کاهش طول تلومر را در بافت قلب و کبد در گذر عمر تقلیل دهد، اما در عضلات اسکلتی ورزش موجب کوتاهی هر چه بیشتر طول تلومر خواهد شد [۲۴]. افزایش فعالیت تلومراز بافت قلبی در پژوهش حاضر به دنبال یک دوره تمرینات ورزشی استقامتی با شدت متوسط شاید به منظور تثبیت طول تلومر و محافظت از انتهای کروموزومی باشد.

رادک و همکاران[۱۹] (۲۰۰۱) در مطالعه‌ای چند جانبه میزان فعالیت تلومراز را در عضلات اسکلتی رتهای سالم و بافت کبدی رتهای سرطانی به دنبال یک دوره تمرینات ورزشی استقامتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تمرینات ورزشی استقامتی منظم با شدت متوسط تأثیر معناداری بر فعالیت تلومراز عضلات اسکلتی رتها ندارد، در حالی که تمرینات ورزشی به طور معناداری رشد تومور سرطانی را کاهش داده و ممکن است در کنار روش‌های درمانی دیگر به ورزش و فعالیت بدنی به عنوان یک مکمل جهت کنترل رشد تومور مورد استفاده قرار گیرد [۳۶].

- [13] Voluntary wheel running

- [14] Shelterin

- [15] Endothelial nitric oxide synthase

- [16] Rainbow, et al

[۱۷] – کیوگونگ (Qigong): یک ورزش چینی می‌باشد که جزو ورزش‌های مدیتیشن به حساب می‌آید و از آن برای کنترل ریتم تنفس استفاده می‌شود.

- [18] Mattew, et al

- [19] Radak, Z et al

فعالیت تلومراز در سلول‌های ایمنی توسط هورمون‌ها و سایتوکاین‌های متنوعی تنظیم می‌شود. هورمون استرادیول [۴۳،۲۳] و α–TNF فعالیت تلومراز را در لنفوسیت‌های T سالم انسان افزایش می‌دهند (ایفروس و همکاران[۲۰]، ۲۰۰۵)، در حالی که اینترفرون آلفا و β–TGF[۲۱] اثرات مخالفی دارند [۳۸،۳۷،۳۶]. در پژوهش حاضر افزایش محتوی تلومراز در لنفوسیت‌های بالغ خون محیطی رتها در پایان یک دوره تمرینات ورزشی مشاهده شد. افزایش فعالیت و محتوی تلومراز در لنفویست‌های بالغ شاید یک مکانیسم جبرانی سیستم ایمنی بدن باشد تا با این استراتژی از کوتاهی بیش از حد تلومرها در حین تقسیم سلولی وسیع به دنبال استرس اکسیداتیوی نظیر یک فعالیت ورزشی استقامتی جلوگیری به عمل آید. از جنبه ایمونولوژی ورزشی نیز می‌توان افزایش فعالیت تلومراز در لنفوسیت‌های خون محیطی را بدین صورت توجیه کرد، انجام فعالیت‌های طولانی‌مدت، بدن را به چالش می‌کشد، این گونه فعالیت‌ها باعث ایجاد پاسخ فاز حاد[۲۲] می‌شوند [۳۹]. این پاسخ که در اثر محرک‌های مختلفی مانند تهاجم میکروبی، آسیب‌های شیمیایی و فیزیکی، عمل جراحی، سوختگی، اختلالات ایمونولوژیکی و فعالیت های بدنی و مانند آنها به وجود می‌آید، می‌تواند در جهت حفظ هموستاز بدن و همچنین محافظت بدن مفید واقع شود. آشفتگی و التهاباتی که به دنبال فعالیت ورزشی در بدن ایجاد می‌شود موجب افزایش تقسیم سلولی لنفوسیت‌ها و در نهایت افزایش فعالیت تلومراز جهت کنترل و حفظ طول تلومر خواهد شد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت بدنی منظم با شدت متوسط (۶۵–۶۰٪max۲Vo) منجر به فعال‌سازی آنزیم تلومراز و تثبیت طول تلومر می‌شود و ورزش و فعالیت بدنی از طریق افزایش فعالیت تلومراز در بافت‌های بدن می‌تواند قابلیت زیست سلول، ثبات ژنتیک را بالا ببرد و اثرات ضدپیری خود را بگذارد.

جدول ۱. پروتکل تمرینات استقامتی

	هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳	هفته ۴	هفته ۵	هفته ۶	هفته ۷	هفته۱۶–۸
سرعت (متر در دقیقه)	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰	۲۲	۲۴	۲۵
زمان (دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰

جدول ۴- تغییرات آنزیم تلومراز بافتهای قلب و لنفوسیت خون محیطی در گروه کنترل و ورزش در پایان ۱۶ هفته تمرینات استقامتی (میانگین و انحراف معیار)

بافت / متغیر	قلب			لنفوسیت خون محیطی		
	کنترل	ورزشی	value P	کنترل	ورزشی	value P
پروتئین (ml/mg)	۱۲.۰۱ ± ۲.۷	۱۳.۱ ± ۱.۸	–	۳.۱ ± ۰.۵۸	۳.۴ ± ۱.۲	–

20- Effros and et al

21- Transforming growth factor beta

22- Acute Phase Response(APR)

غلظت تلومراز (ml/ pg)	± ۸۶۲۱ ۱۹۴۳۷	± ۷۷۸۹ ۳۰۱۹۲	–	± ۵۷.۴ ۲۸۸	± ۱۷۸ ۸۳۳	–
غلظت تلومراز/ پروتئین (mg/pg)	± ۴۶۸ ۱۵۷۶	± ۳۳۳ ۲۲۶۴	۰/۰۰۴**	± ۱۹ ۱۰۰	± ۵۳ ۱۹۹	۰ /۰۰۴**
فعالیت تلومراز (AU)	± ۰.۰۰۷ ۰.۲۲	± ۰.۰۵ ۰.۳	۰/۰۴*	± ۰.۰۰۸ ۰.۰۱۲	± ۰.۰۰۳ ۰.۰۲۶	۰.۰۳*

مراجع

1- Jeanclos E, Schork NJ, Kyvik KO, Kimura M, Skurnick JH, Aviv A. Telomere length inversely correlates with pulse pressure and is highly familial. Hypertension. 36:195–200, 2000.

2- Ambrosio F, F. Kadi, J. Lexell, G. Kelley Fitzgerald, M. L. Boninger, and J. Huard. The effect of muscle loading on skeletal muscle regenerative potential: an update of current research findings relating to aging and neuromuscular pathology. American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation, vol. 88, no. 2, pp. 145–155, 2009.

3- Dimri GP et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. Proc. Natl Acad. Sci. USA, 92:9363.9367, 1995.

4- Duncan EL et al. Senescence and immortalization of human cells. Biogerontology, 1:103.121, 2000.

5- Jiang H, E. Schiffer, Z. Song et al. Proteins induced by telomere dysfunction and DNA damage represent biomarkers of human aging and disease. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 105, no. 32, pp. 11299–11304, 2008.

6- Njajou OT, Cawthon RM, Damcott CM, et al. Telomere length is paternally inherited and is associated with parental lifespan. Proc Natl Acad Sci U S A. 104:12135–12139, 2007.

7- Matthew J. Laye, Thomas P. J. Solomon, Kristian Karstoft, Karin K. Pedersen, Susanne D. Nielsen and Bente K. Pedersen. ultra-long-distance running event mononuclear cells and skeletal muscle following an Increased shelterin mRNA expression in peripheral blood. J Appl Physiol 112:773-781, 2012.

8- Renault V, Piron-Hamelin G, Forestier C, DiDonna S, Decary S, Hentati F, Saillant G, Butler-Browne GS & Mouly V. Skeletal muscle regeneration and the mitotic clock. Experimental Gerontology 35 711–719, 2000.

9- Adams J, Martin-Ruiz C, Pearce MS, White M, Parker L, von Zglinicki T. No association between socio-economic status and white blood cell telomere length. Aging Cell. 6:125–128, 2007.

10- Benetos A, Okuda K, Lajemi M, et al. Telomere length as an indicator of biological aging—the gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. Hypertension, 37:381–385, 2001.

11- Samani NJ, Boultby R, Butler R, Thompson JR, Goodall AH. Telomere shortening in atherosclerosis. Lancet. 358:472–473, 2001.

12- De Meyer T, Rietzschel ER, De Buyzere ML, et al. Paternal age at birth is an important determinant offspring telomere length. Hum Mol Genet, 16: 3097–3102, 2007.

13- Puterman E, J. Lin, E. Blackburn, A. O'Donovan, N. Adler, and E. Epel. The power of exercise: buffering the effect of chronic stress on telomere length. PLoS ONE, vol. 5, no. 5, Article ID e10837, 2010.

14- Cherkas LF, Hunkin JL, Kato BS, et al. The association between physical activity in leisure time and leukocyte telomere length. Arch Intern Med. 168:154–158. 2008.

15- Harris SE, Deary IJ, Maclntyre A, et al. The association between telomere length, physical health, cognitive ageing, and mortality in non-demented older people. Neurosci Lett. 406:260–264, 2006.

16- Puterman E, J. Lin, E. Blackburn, A. O'Donovan, N. Adler, and E. Epel. The power of exercise: buffering the effect of chronic stress on telomere length. PLoS ONE, vol. 5, no. 5, Article ID e10837, 2010.

17- Rae DE, Vignaud A, Butler-browne GS, Thornell L-E, Sinclair-Smith C, Derman E.W, Lambert M.I, Collins M. Skeletal muscle telomere length in healthy, experienced, endurance runners. Eur J Appl Physiol, 109:323–330, 2010.

18- Renault V, Piron-Hamelin G, Forestier C, DiDonna S, Decary S, Hentati F, Saillant G, Butler-Browne GS & Mouly V. Skeletal muscle regeneration and the mitotic clock. Experimental Gerontology 35 711–719, 2000.

19- Ponsot E, J. Lexell, and F. Kadi. Skeletal muscle telomere length is not impaired in healthy physically active old women and men. Muscle and Nerve, vol. 37, no. 4, pp. 467–472, 2008.

20- Kadi F, E. Ponsot, K. Piehl-Aulin et al. The effects of regular strength training on telomere length in human skeletal muscle. Medicine and Science in Sports and Exercise, vol. 40, no. 1, pp. 82–87, 2008.

21- Ponsot E, J. Lexell, and F. Kadi. Skeletal muscle telomere length is not impaired in healthy physically active old women and men. Muscle and Nerve, vol. 37, no. 4, pp. 467–472, 2008.

22- Werner C, M. Hanhoun, T. Widmann et al. Effects of physical exercise onmyocardial telomere-regulating proteins, survival pathways, and apoptosis. Journal of the American College of Cardiology, vol. 52, no. 6, pp. 470–482, 2008.

23- Werner C, T. F¨urster, T. Widmann et al. Physical exercise prevents cellular senescence in circulating leukocytes and in the vessel wall. Circulation, vol. 120, no. 24, pp. 2438–2447, 2009.

24- Ludlow, A.T; Witkowski, S; Marshall, M.R; Wang, J; Lima, L.CJ; Guth, L.M; Spangenburg, E.E; Roth, S.M. Chronic Exercise Modifies Age-Related Telomere Dynamics in a Tissue-Specific Fashion. J Gerontol A Biol Sci Med Sci (2012) 67 (9): 911-926.

25- Decary S, Mouly V, Ben Hamida C et al. Replicative potential and telomere length in human skeletal muscle: implications for satellite cell-mediated gene therapy. Hum Gene Ther 8: 1429–1438, 1997.

26- Schmitt CA et al. A senescence program controlled by p53 and p16INK4a contributes to the outcome of cancer therapy. Cell, 109:335.346, 2002.

27- Song Z, G. von Figura, Y. Liu et al. Lifestyle impacts on the aging-associated expression of biomarkers of DNA damage and telomere dysfunction in human blood. Aging cell, vol. 9, no. 4, pp. 607–615, 2010.

28- Roux AV, Ranjit N, Jenny NS, et al. Race/ethnicity and telomere length in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. Aging Cell. 8:251–257, 2009.

29- Vasile E et al. Differential expression of thymosinbeta-10 by early passage and senescent vascular endothelium is modulated by VPF/VEGF: evidence for senescent endothelial cells in vivo at sites of atherosclerosis. FASEB J, 15:458.466, 2003.

30- Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, et al. Rise in insulin resistance is associated with escalated telomere attrition. Circulation.111:2171–2172, 2005.

31- Honda S, L.M. Hjelmeland, J.T. Handa. Senescence associated beta galactosidase activity in human retinal pigment epithelial cells exposed to mild hyperoxia in vitro, Br. J. Ophthalmol. 86, 159–162, 2002.

32- Kimura M, Cherkas LF, Kato BS, et al. Offspring's leukocyte telomere length, paternal age, and telomere elongation in sperm. PLo Genet, 4:e37, 2008.

33- Rainbow T. H. Ho, Jessie S. M. Chan, Chong-Wen Wang, Benson W. M. Lau, Kwok Fai So, Li Ping Yuen, Jonathan S. T. Sham, Cecilia L. W. Chan. A Randomized Controlled Trial of Qigong Exercise on Fatigue Symptoms, Functioning, and Telomerase Activity in Persons with Chronic Fatigue or Chronic Fatigue Syndrome. Ann Behav Med. 2012, 44(2): 160–170.

34- Woo J, Suen EW, Leung JC, Tang NL, Ebrahim S. Older men with higher self-rated socioeconomic status have shorter telomeres. Age Ageing. 38: 553–558, 2009.

35- Woo J, Suen EW, Leung JC, Tang NL, Ebrahim S. Older men with higher self-rated socioeconomic status have shorter telomeres. Age Ageing. 38:553–558, 2009..

36- Radak, Z; Taylor, A.W; Sasvari, M; Ohno, H; Horkay, B; Furesz, J; Gaal, D; Kanel, T. Telomerase activity is not altered by regular strenuous exercise in skeletal muscle or by sarcoma in liver of rats. Volume 6, Number 2, April 2001 , pp. 99-103(5).

37- Fitzpatrick AL, Kronmal RA, Gardner JP, et al. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in the cardiovascular health study. Am J Epidemiol. 165:14–21, 2007.

38- Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, et al. Rise in insulin resistance is associated with escalated telomere attrition. Circulation.111:2171–2172, 2005.

39- Roth S-M, Martel G-F, Ivey F-M and et al. Skeletal muscle satellite cell characteristics in young and older men and women after heavy resistance strength training. Journals of Gerontology—Series A iological Sciences and Medical Sciences, vol. 56, no. 6, pp. B240–B247, 2001.