

پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش

دوره ۹، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶

ص ص : ۱۴۰ - ۱۲۷

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

حمزه اکبری بوکانی^{۱*} - علی اصغر رواسی^۲ - محمدرضا کردی^۳

۱. استادیار فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده طب ورزشی، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی .۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران .۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳ / ۰۵ / ۱۳۹۳، تاریخ تصویب: ۰۷ / ۱۰ / ۱۳۹۳)

چکیده

هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر شانزده هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر محتوای آنزیم تلومراز بافت قلب و لنفوسیت‌های خون محیطی رت‌های نر بود. بدین منظور رت‌های تهیه‌شده از انستیتوی پاستور ایران به صورت تصادفی به دو گروه کنترل ($n=8$) و ورزشی ($n=8$) 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 شانزده 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 طی هشت هفته دوم ثابت نگه داشته شد. پس از اتمام دوره در حالت ناشتا و روز پس از آخرین جلسه تمرین نمونه‌های مورد نیاز از رت‌ها جمع‌آوری شد. نتایج نشان داد که تمرینات استقامتی با شدت متوسط موجب افزایش معنادار فعالیت تلومراز در بافت قلبی ($P=0/004$) و لنفوسیت‌های خون محیطی ($P=0/004$) شد. به طور کلی می‌توان گفت که فعالیت بدنی منظم با شدت متوسط (۶۵-۶۰٪ Vo_2max) به فعال‌سازی آنزیم تلومراز و تثبیت طول تلومر منجر 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.

واژه‌های کلیدی

پیری، تلومر، تلومراز، فعالیت بدنی طولانی‌مدت.

مقدمه

«تلومراز» یک آنزیم ترانس کریپتاز معکوس است که با اضافه کردن توالی تکراری TTAGGG، مانع کوتاه شدن تلومر شده و بدون نیاز به الگو موجب سنتز تلومر می‌شود. در واقع یک آنزیم ریونکلئوپروتئینی 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 (۲۹،۱۰). یافته‌ها نشان می‌دهد که از بین عوامل مؤثر بر طول تلومر و فعالیت آنزیم تلومراز ظاهراً فعالیت بدنی منظم نقش مهمی دارد (۱۹،۱۶،۶). 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 فرایند پیری برمی‌آید (۳۳،۳۱). در آغاز سال ۲۰۰۸، گروه‌های تحقیقاتی متعددی ارتباط بین فعالیت بدنی و طول تلومر و فعالیت تلومراز را در انسان بررسی کردند. طول تلومر در عضلات اسکلتی مردان و زنان فعال و غیرفعال در دو گروه سنی جوان و پیر (پون سوت^۴ و همکاران)، تغییرات تلومر و آنزیم تلومراز در پاسخ به فعالیت‌های مقاومتی مانند پاورلیفترهای رقابتی و تفریحی (کادی^۵ و همکاران) در سال ۲۰۰۸ بررسی شدند (۲۸،۲۱). پون سوت و همکاران هیچ ارتباطی بین فعالیت ورزشی منظم با شدت متوسط و کوتاهی طول و فعالیت تلومراز مشاهده نکردند (۲۸). علاوه بر مطالعات انسانی روی حیوانات نیز تحقیقات گسترده‌ای در زمینه نقش فعالیت بدنی بر بیولوژی تلومر و تلومراز انجام گرفته است. ورنر و همکاران (۲۰۰۸) اثرات دویدن ارادی روی چرخ دوار^۶ را بر میزان فعالیت تلومراز، طول تلومر، IGF-1 و eNOS سلول‌های عضلانی بافت قلب موش‌ها بررسی کردند (۴۴). یک سال بعد، ورنر و همکاران (۲۰۰۹) بار دیگر نشان دادند که تمرینات

پیری سلولی^۱ از اساسی‌ترین مراحل در رفتار سلول به حساب می‌آید که تصور می‌شود نقش بسیار مهمی در تنظیم طول عمر سلول دارد (۲۰). فرایند تکثیر و رشد سلول‌های سوماتیک اولیه در شرایط آزمایشگاهی^۲ محدود است. در واقع، پس از یک دوره سریع تکثیر، میزان تقسیم سلولی کند شده و سلول‌ها به هم نزدیک می‌شوند و به محرک‌های میتوزنیک پاسخ نمی‌دهند. این فرایند در اصطلاح «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 لیپوفوسین^۳، تغییرات گسترده در بیان ژنی و کوتاه شدن طول تلومر اشاره داشت (۱۲،۱۱،۳). «تلومر» ساختار انتهایی کروموزوم در یوکاریوت‌هاست که وظیفه حیاتی حفاظت از انتهای کروموزوم را بر عهده دارد (۲۷،۱۹). در انسان و مهره‌داران تلومر از هزاران تکرار 3'-TTAGGG-5' که به شکل پشت سر هم در انتهای کروموزوم قرار دارند، تشکیل شده و وظیفه اصلی آن حفاظت و پایداری کروموزوم است (۳۳،۲۵). 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 شده و نیز کوتاه موجب کاهش قلمرو اثر آن در سرکوب ژن‌های مجاور می‌شود و ژن‌هایی که تاکنون خاموش بوده‌اند، روشن می‌شوند. همچنین کوتاه شدن مداوم تلومر به توقف چرخه سلولی و مرگ سلولی می‌انجامد (۳۷،۴،۲). سه مکانیسم کلی برای افزایش درازای تلومر در موجودات یوکاریوت وجود دارد؛ مکانیسم غالب استفاده از آنزیم تلومراز است.

4. Ponsot

5. Kadi

6. Voluntary wheel running

1. Cellular senescence

2. In vitro

3. Accumulated lipofuscin granules

فعالیت آنزیم تلومراز در بافت قلب و لنفوسیت‌های (بالغ) خون محیطی در رت‌های نر بررسی شود.

روش‌شناسی تحقیق

روش تحقیق حاضر از نوع تجربی است که در آن تأثیر یک دوره تمرینات استقامتی شانزده‌هفته‌ای بر فعالیت آنزیم تلومراز در بافت‌های مختلف رت‌های نر بررسی می‌شود.

آزمودنی‌ها و طرح تحقیق

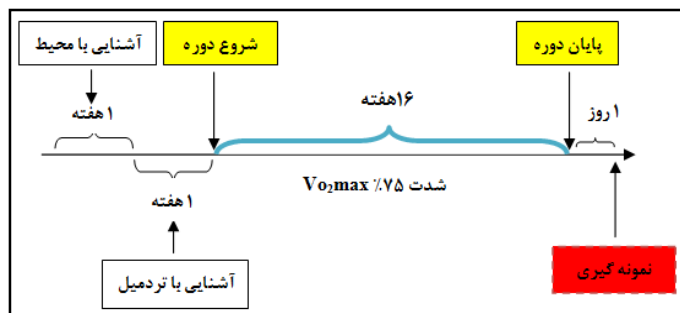
تعداد ۲۰ سر رت نر ویستار دوماهه از مؤسسه پاستور ایران خریداری شد. سپس مطابق با دستورالعمل انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی در حیوان‌خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران در ۲۰ قفس به‌صورت جداگانه نگهداری شدند. این حیوانات در چرخه شبانه فعال‌اند و غذا می‌خورند و در سیکل روزانه به استراحت، خواب و هضم غذا مشغول‌اند. بررسی‌های اولیه نشان داد که تغییر چرخه تاریکی به روشنایی (فعالیت ورزشی در روز) موجب تغییر ریتم ادراری و تغییر فیزیولوژیک بدن حیوان خواهد شد و برای سازش با این تغییر تقریباً دو هفته زمان لازم است، از این‌رو 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 درصد و درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد رعایت شد. رت‌ها طی این مدت دسترسی آزاد به آب دارند. پس از گذشت دو هفته پروتکل اصلی تمرین شروع شد؛ به این صورت که ابتدا تعداد ۱۶ سر رت نر در دو گروه هشت‌تایی، گروه کنترل و گروه تجربی (تمرینات استقامتی) قرار داده شد. گروه تجربی به مدت شانزده

ورزشی فعالیت آنزیم تلومراز، پروتئین‌های متصل‌شده به تلومر و بیان mRNA ی آنها را افزایش و سطوح Chk2، p53 و p16 را در آنورت موش‌ها کاهش داده است (۴۵). لودلوو^۱ و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه‌ای به بررسی تأثیرات ورزش طولانی‌مدت (یکساله) بر فعالیت آنزیم تلومراز و دینامیک تلومر در رت‌های هشت‌هفته‌ای پرداختند. نتایج نشان داد که فعالیت تلومراز در عضلات اسکلتی گروه ورزش در مقایسه با گروه کنترل بی‌تحرك افزایش یافت، اما در بافت کبدی و قلب بین دو گروه تغییرات معناداری مشاهده نشد (۲۴).

به‌طور کلی نتایج مطالعات انجام‌گرفته در زمینه بیولوژی تلومر، فعالیت تلومراز و نقش ورزش بر آنها نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی یک محرک قوی برای سیستم تلومری به‌حساب می‌آید و این تأثیرات 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 اهمیت خاصی دارد، تا در نهایت پروتکل‌های تمرینی قابل تعمیمی ارائه داده شوند. در زمینه تأثیر فعالیت‌های ورزشی مختلف روی طول تلومر، فعالیت تلومراز و فرایند پیری مطالعات گسترده‌ای انجام گرفته، اما نتایج به‌دست‌آمده با هم همسو نیست که شاید دلیل آن اختلاف در روش‌شناسی و نمونه‌های مورد استفاده باشد و سؤالات زیادی در این زمینه مطرح است. با توجه به بررسی پیشینه تحقیق حاضر و فرضیه‌های موجود و در نهایت به‌دلیل در دسترس نبودن اطلاعات کافی در مورد نقش فعالیت‌های ورزشی روی فرایند پیری، در این تحقیق سعی شد تأثیر یک دوره تمرینات استقامتی شانزده‌هفته‌ای با شدت متوسط (۶۵-۶۰ درصد VO_{2max}) روی

نیاز از رت‌ها جمع‌آوری و به‌منظور آنالیز به پژوهشگاه مهندسی ژنتیک واقع در شهرک پژوهش انتقال داده شدند.

هفته تحت تأثیر تمرینات استقامتی با شدت متوسط یک جلسه در روز قرار گرفتند. پس از اتمام دوره در حالت ناشتا و روز پس از آخرین جلسه تمرین نمونه‌های مورد



نمودار ۱. نمودار شماتیکی طرح و زمان‌بندی تحقیق

دقیقه به مدت تمرین اضافه شد تا به مدت ۵۰ دقیقه برای گروه تمرین رسید. در ابتدای هر جلسه آزمودنی‌ها به‌منظور 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).

پروتکل فعالیت ورزشی

رت‌های گروه تمرینی پنج روز در هفته (شنبه تا چهارشنبه) به مدت شانزده هفته 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 ۱۰-۱۲ متر در دقیقه و شیب صفر درصد به مدت ۱۰ دقیقه است که به‌صورت روزانه ۵

جدول ۱. پروتکل تمرینات استقامتی

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

سنجش ایمنی ساندویچ الایز^۱ که یک روش کمی است، استفاده شد. داخل میکروپلیت‌های کیت مورد نظر پوشیده از آنتی‌بادی 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

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 محتوای تلومراز در بافت‌های منظور برحسب میزان پروتئین بافت اندازه‌گیری شد. به همین منظور از کیت Rat Telomerase Elisa Kit، شرکت CUSABIO برای سنجش محتوای تلومراز و «تکنیک

1. Quantitative sandwich enzyme immunoassay technique

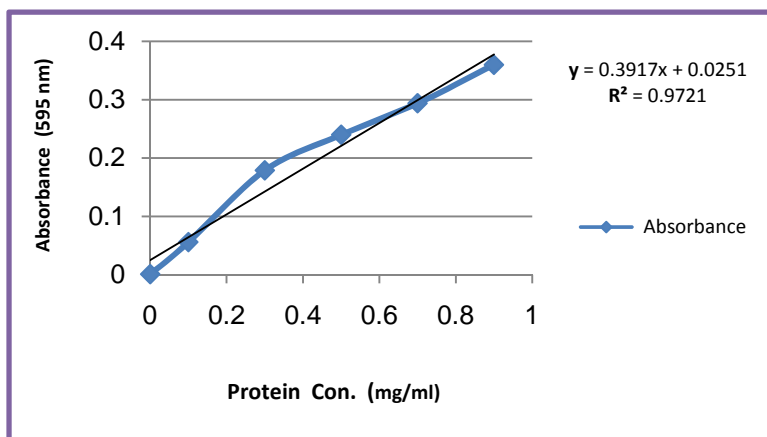
شود. مراحل این روش به این صورت است: ۱. تهیه ۵ ml خون حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA.ACD)؛ ۲. اضافه کردن ۵ ml نرمال سالین سرد (۸/۵g/l) به خون؛ ۳. تهیه ۳ ml فایکول در یک لوله سانتریفیوژ تمیز؛ ۴. تهیه ۵-۸ ml خون رقیق شده با نرمال سالین سرد، به آرامی بر روی فایکول اضافه کنید؛ ۵. لوله حاوی فایکول و خون به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شود؛ ۶. لایه حاوی لنفوسیت‌ها به آرامی جدا شده و به لوله سانتریفیوژ تمیز منتقل شود؛ ۷. معادل حجم لنفوسیت‌های جدا شده نرمال سالین سرد اضافه شده، به مدت ۵ دقیقه در دور ۲۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شود؛ ۸. مایع روی سلول‌های پک شده بیرون ریخته شده و مقدار ۰/۵ نرمال سالین سرد به سلول‌ها بیفزایید، سوسپانسیون سلولی را تا مرحله ارزیابی در دمای ۸۰- نگهداری کنیم.

می‌چسبد. مراحل آماده‌سازی بافت قلب به‌منظور سنجش میزان محتوای تلومراز به شرح زیر است:

- همگن و آماده کردن بافت^۱: ابتدا مقداری از بافت با تیغ جراحی جدا شده (۱۰۰ mg) و سپس با یک میلی‌لیتر PBS 1X در داخل میکروتیوب هموژنیزه شد. پس از Vortex بافت به مدت یک شب در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از دو چرخه فریز تاو شدن غشای سلول‌های بافت شکسته شد و هموژنایز موجود در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ g سانتریفیوژ انجام گرفت. سپس محلول رویی از میکروتیوب‌ها بلافاصله برداشته شد و سوسپانسیون موجود ارزیابی شد یا در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان مورد نظر نگه داشته شد.

تهیه استاندارد و رسم منحنی استاندارد برای تلومراز:
۱. ریختن مقدار ۲۵۰ μl از محلول رقیق‌کننده به هر کدام از میکروتیوب‌ها (S0-S6)؛ ۲. پیپت کردن ۲۵۰ μl از محلول استاندارد به S6 و خارج کردن همان مقدار از S6 و انتقال آن به S5 و به همین ترتیب پس از هر پیپت کردن مقدار مورد نظر به میکروتیوب بعدی انتقال داده شد تا به S1 (۵۰۰ μl) برسد (جدول ۲). برای رسم منحنی استاندارد از نرم‌افزار حرفه‌ای Curve Exert 1.3 (براساس پیشنهاد کیت) استفاده شد (نمودار ۳). پس از آماده‌کردن بافت‌های مورد نظر و استاندارد لازم، پروتکل سنجش محتوای تلومراز به شرح زیر انجام گرفت (جدول ۳).

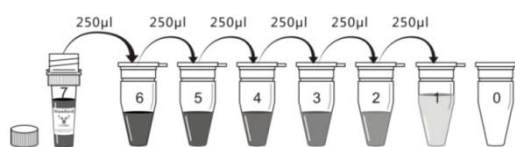
روش جداسازی لنفوسیت: برای اندازه‌گیری و جداسازی لنفوسیت‌ها از خون محیطی از فایکول (Ficoll) استفاده شد. در این روش خون با ماده‌ای مخلوط می‌شود که موجب تجمع سلول‌های قرمز خون و در نتیجه افزایش سرعت رسوب آنها می‌شود، بنابراین لنفوسیت‌ها از لایه بالای سلول‌های قرمز، جمع‌آوری می‌-



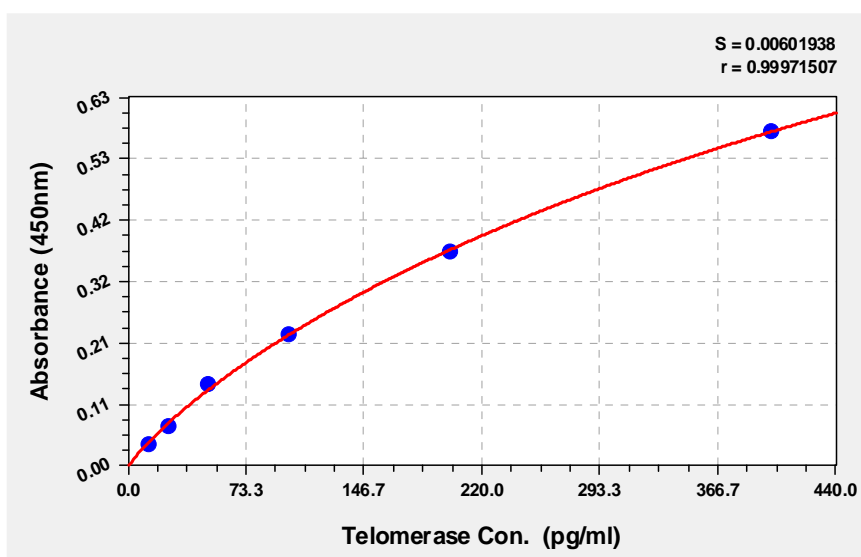
غلظت	جذب
۰	۰.۰
۰.۱	۰.۰۵۶
۰.۳	۰.۱۷۹
۰.۵	۰.۲۴
۰.۷	۰.۲۹۴
۰.۹	۰.۳۶

نمودار ۲. محاسبهٔ سنجش پروتئین بافت‌های مختلف (mg/ml) با استفاده از منحنی استاندارد برادفورد (نرم‌افزار Excel)

جدول ۲. مراحل تهیهٔ محلول استاندارد



Tube	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
Pg/ml	400	200	100	50	25	12.5	6.25	0



نمودار ۳. محاسبهٔ غلظت‌های تلومراز (pg/ml) با استفاده از منحنی استاندارد تلومراز (نرم‌افزار Curve Exert 1.3)

جدول ۳. مراحل سنجش محتوای تلومراز پس از آماده‌سازی بافت



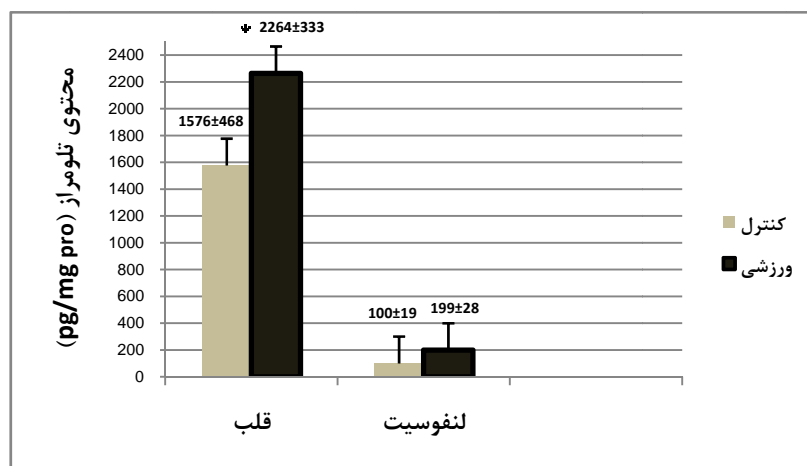
روش‌های آماری

از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) برای توصیف داده‌ها و برای رسم نمودار از برنامه Excel و Curve Exert 1.3 استفاده شد. کلیه عملیات آماری توسط نرم‌افزار SPSS انجام گرفت و سطح معناداری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. در ادامه با استفاده از آزمون کولموگروف- 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 یکسان و شرایط نگهداری کاملاً مشابه داشتند، نمونه‌های اولیه به‌منظور اندازه‌گیری محتوای تلومراز در گروه کنترل گرفته نشد و فقط نمونه‌های پایانی در دو گروه ارزیابی و مقایسه شد.

نتایج

میانگین و انحراف معیار آنزیم تلومراز و میزان پروتئین استخراج‌شده در بافت قلب گروه کنترل به ترتیب $12/01 \pm 2/7$ mg/ml و در گروه ورزشی به ترتیب 19437 ± 3234 mg/ml و 30192 ± 4246 pg/ml و $13/16 \pm 1/82$ بود که برحسب میزان پروتئین بافت، محتوای آنزیم تلومراز در گروه کنترل حدود pg/mg pro 2264 ± 333 و در گروه ورزشی 1576 ± 468 pg/mg pro به‌دست آمد.

یافته‌های آماری نشان داد که بین گروه کنترل و ورزشی در محتوای تلومراز بافت قلب در پایان یک دوره فعالیت استقامتی با شدت متوسط اختلاف معناداری وجود دارد ($P \leq 0/01$) (جدول ۱).



نمودار ۴. محتوای غلظت تلومراز (پیکوگرم/میلی‌گرم پروتئین بافت) در بافت‌های قلب و لنفوسیت خون محیطی رت‌های نر در گروه ورزشی پس از پایان یک دوره تمرینات استقامتی شدت متوسط ۱۶ هفته‌ای و همچنین گروه کنترل. علامت * نشانه معنادار بودن

جدول ۴. محتوای آنزیم تلومراز برحسب میزان پروتئین بافت‌های قلب و لنفوسیت خون محیطی در دو گروه کنترل و ورزشی در پایان یک دوره تمرینات استقامتی (میانگین و انحراف معیار)

متغیر	بافت		قلب		لنفوسیت خون محیطی	
	کنترل	ورزشی	P value	کنترل	ورزشی	P value
تلومراز (pg/ml)	۱۹۴۳۷±۸۶۲۱	۳۰۱۹۲±۷۷۸۹	-	۲۸۸±۵۷/۴	۸۳۳±۱۷۸	-
پروتئین (mg/ml)	۱۲/۰۱±۲/۷	۱۳/۱±۱/۸	-	۳/۱±۰/۵۸	۳/۴±۱/۲	-
تلومراز/پروتئین (pg/mg)	۱۵۷۶±۴۶۸	۲۲۶۴±۳۳۳	*.۰/۰۰۴	۱۰۰±۱۹.۲	۱۹۹±۵۳	*.۰/۰۰۴

سطح معناداری، * : $P \leq 0.01$

فعالیت استقامتی با شدت متوسط اختلاف معناداری وجود دارد ($P \leq 0.01$) (جدول ۱).

بحث و نتیجه‌گیری

میزان محتوا و فعالیت تلومراز تحت تأثیر استرس‌های اکسیداتیو مختلفی قرار می‌گیرد و ممکن است به صورت افزایشی یا کاهش تنظیم شود (۴،۸). از بین این استرس‌ها، فعالیت ورزشی و سرطان‌های مختلف بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (۴۰،۳۹). اثرات ورزش و فعالیت بدنی بر فعالیت تلومراز هنوز ناشناخته‌اند، درحالی‌که

تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده از لنفوسیت‌های خون محیطی نشان داد که میانگین و انحراف معیار آنزیم تلومراز و میزان پروتئین استخراج‌شده در گروه کنترل به ترتیب 288 ± 57.4 pg/ml و $3/1 \pm 0.58$ mg/ml و در گروه تجربی (ورزشی) به ترتیب 833 ± 178 pg/ml و $3/4 \pm 1/2$ mg/ml بود که برحسب میزان پروتئین بافت، محتوای آنزیم تلومراز در لنفوسیت‌های خون محیطی گروه کنترل حدود 100 ± 19.2 pg/mg pro و در گروه ورزشی 199 ± 28 pg/mg pro به‌دست آمد. یافته‌های آماری نشان داد که بین گروه کنترل و ورزشی در محتوای تلومراز لنفوسیت‌های خون محیطی در پایان یک دوره

IGF-1 و eNOS^۵ می‌تواند اثرات محافظتی و مفید خود را بر تلومر بگذارد، نتایج آنها با نتایج پژوهش حاضر همسوست (۴۴).

رین بوو^۶ و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه‌ای به بررسی نقش ورزش کیوگونگ^۷ بر علائم خستگی، عملکرد و فعالیت تلومراز در افرادی با خستگی مزمن یا مبتلا به سندروم 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 به‌طور معناداری بهبود پیدا کرد. میزان فعالیت تلومراز نیز در گروه ورزش افزایش یافت که با نتایج پژوهش حاضر همسو بود (۳۲). برخی مطالعات عدم تغییر فعالیت تلومراز در بافت قلبی به‌دنبال یک دوره تمرینات ورزشی طولانی‌مدت را گزارش کردند. ماتیو^۸ و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که بیان mRNA شلترین در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی و سلول‌های عضلانی به‌دنبال مسابقه دویدن التراماراتون افزایش داشته است. میانگین طول تلومر در عضلات اسکلتی تغییری نیافت. همچنین میزان بیان hTERT یا همان فعالیت تلومراز نیز در این عضلات تغییرات شایان ملاحظه‌ای نداشت که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد (۲۵). لوودلاو و همکاران (۲۰۱۲) افزایش فعالیت تلومراز در عضلات اسکلتی و عدم تغییر فعالیت تلومراز در بافت قلب و کبد را به‌دنبال یک دوره تمرینات استقامتی طولانی‌مدت 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 هرچه بیشتر طول تلومر خواهد شد (۲۴). افزایش فعالیت تلومراز بافت

تأثیرات سرطان به‌خوبی آشکار شده‌اند. لافس و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند که فعالیت بدنی منظم به فعال‌سازی آنزیم تلومراز و تثبیت طول تلومر منجر می‌شود. از طرف دیگر، نشان داده شده کاهش توانایی بدن در حفظ طول تلومر ارتباط مستقیم با افزایش خطر بیماری‌های قلبی - عروقی دارد (۴۲،۳۷،۳۶). از این رو ورزش و فعالیت بدنی با شدت‌های خاص می‌تواند به‌عنوان 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 (۱۵،۱۰،۹). هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرینات استقامتی با هدف ممانعت از پیری سلولی بر محتوای آنزیم تلومراز بافت قلب و لنفوسیت‌های خون محیطی رت‌های نر بود. در بسیاری از مطالعات فعالیت تلومراز به‌عنوان یک شاخص قوی‌تر از طول تلومر برای بررسی قابلیت زیست سلول^۱ یا ثبات ژنتیکی^۲ و فرایند بیماری‌ها معرفی شده است (۲۲،۱۸). در پژوهش حاضر میزان محتوای تلومراز بافت قلب و لنفوسیت‌ها در گروهی که یک دوره فعالیت ورزشی استقامتی را پشت سر گذرانده بودند، بیشتر از گروه کنترل بود. به‌نظر می‌رسد که فعالیت بدنی منظم موجب افزایش فعالیت و محتوای تلومراز در بافت قلب شده است. ورنر و همکاران در مطالعه‌ای مشابه (۲۰۰۸) نشان دادند که دویدن ازادی روی چرخ دوار^۳ اثرات محافظتی بر سلول‌های عضلانی بافت قلب موش‌ها دارد. آنها بر این باورند که فعالیت بدنی از طریق افزایش پروتئین‌های متصل‌شده به تلومر (شلترین^۴) و افزایش فعالیت آنزیم تلومراز با واسطه‌گری جزء پروتئینی تلومراز (TERT)،

5. Endothelial nitric oxide synthase

6. Rainbow

^۷ کیوگونگ (Qigong): یک ورزش چینی و جزو ورزش‌های مدیتیشن است و برای کنترل ریتم تنفس استفاده می‌شود.

8. Mattew

1. Cellular viability

2. Genomic stability

3. Voluntary wheel running

4. Shelterin

طولانی‌مدت، بدن را به چالش می‌کشد، این‌گونه فعالیت‌ها موجب ایجاد پاسخ فاز حاد^۴ می‌شوند (۴۶). این پاسخ که در اثر محرک‌های مختلفی مانند تهاجم میکروبی، آسیب‌های شیمیایی و فیزیکی، عمل جراحی، سوختگی، اختلالات ایمنولوژیکی و فعالیت‌های بدنی و مانند آنها به‌وجود می‌آید، می‌تواند در جهت حفظ هموستاز بدن و همچنین محافظت بدن مفید واقع شود. آشفتگی و التهاباتی که در پی فعالیت ورزشی در بدن ایجاد می‌شود، موجب افزایش تقسیم سلولی لنفوسیت‌ها و در نهایت افزایش فعالیت تلومرز جهت کنترل و حفظ طول تلومر خواهد شد. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت بدنی منظم با شدت متوسط (۶۵-۶۰٪ Vo₂max) به فعال‌سازی آنزیم تلومرز و تثبیت طول تلومر منجر می‌شود و ورزش و فعالیت بدنی از طریق افزایش فعالیت تلومرز در بافت‌های بدن می‌تواند قابلیت زیست سلول، ثبات ژنتیک را بالا ببرد و تأثیرات ضدپیری خود را بگذارد.

قلبی در پژوهش حاضر در پی یک دوره تمرینات ورزشی استقامتی با شدت متوسط شاید به‌منظور تثبیت طول تلومر و محافظت از انتهای کروموزومی باشد. رادک^۱ و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعه‌ای چندجانبه میزان فعالیت تلومرز را در عضلات اسکلتی رت‌های سالم و بافت کبدی رت‌های سرطانی در پی یک دوره تمرینات ورزشی استقامتی بررسی کردند. نتایج نشان داد که تمرینات ورزشی استقامتی منظم با شدت متوسط تأثیر معناداری بر فعالیت تلومرز عضلات اسکلتی رت‌ها ندارد، درحالی‌که تمرینات ورزشی به‌طور معناداری رشد تومور سرطانی را کاهش می‌دهند و ممکن است در کنار روش‌های درمانی دیگر به ورزش و فعالیت بدنی به‌عنوان یک مکمل به‌منظور کنترل رشد تومور استفاده شود (۳۰).

فعالیت تلومرز در سلول‌های ایمنی توسط هورمون‌ها و سایتوکاین‌های متنوعی تنظیم می‌شود. هورمون استرادیول (۴۳،۲۳) و TNF- α فعالیت تلومرز را در لنفوسیت‌های T سالم انسان افزایش می‌دهند (ایفروس^۲ و همکاران، ۲۰۰۵)، درحالی‌که اینترفرون آلفا و TGF- β^3 تأثیرات مخالفی دارند (۱۷،۱۵،۱۴). در پژوهش حاضر افزایش محتوای تلومرز در لنفوسیت‌های بالغ خون محیطی رت‌ها در پایان یک دوره تمرینات ورزشی مشاهده شد. افزایش فعالیت و محتوای تلومرز در لنفوسیت‌های بالغ شاید یک مکانیسم جبرانی سیستم ایمنی بدن باشد تا با این استراتژی از کوتاهی بیش از حد تلومرها در حین تقسیم سلولی وسیع به‌دنبال استرس اکسیداتیوی مانند یک فعالیت ورزشی استقامتی جلوگیری به‌عمل آید. از جنبه ایمنولوژی ورزشی نیز می‌توان افزایش فعالیت تلومرز در لنفوسیت‌های خون محیطی را بدین صورت توجیه کرد؛ انجام فعالیت‌های

1. Radak, Z
2. Effros
3. Transforming growth factor beta

4. Acute Phase Response (APR)

منابع و مأخذ

1. Shariatzade M. The effect of 12 week endurance training on plasma gerlin, PYY-3-36, food intake and weight in fatty rats. *Journal of exercise and biology science*, No: 14, 2012.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Bekaert S, De Meyer T, Rietzschel ER, et al. Telomere length and cardiovascular risk factors in a middle-aged population free of overt cardiovascular disease. *Aging Cell*. 6:639–647, 2007.
6. 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.
7. Chernova T, P. Nicotera, A.G. Smith. Heme deficiency is associated with senescence and causes suppression of N-methyl-D-aspartate receptor subunits expression in primary cortical neurons, *Mol. Pharmacol*. 69, 697–705, 2006.
8. 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.
9. Decary S, Ben Hamida C, Mouly V et al (2000). Shorter telomeres in dystrophic muscle consistent with extensive regeneration in young children. *Neuromusc Disord* 10:113–120
10. 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.
11. 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.
12. Duncan EL et al. Senescence and immortalization of human cells. *Biogerontology*, 1:103.121, 2000.
13. Epel E-S, E. H. Blackburn, J. Lin et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, no. 49, pp. 17312–17315, 2004.
14. 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.

15. Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, et al. Rise in insulin resistance is associated with escalated telomere attrition. *Circulation*. 111:2171–2172, 2005.
16. Harris SE, Deary IJ, MacIntyre 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.
17. Hunt SC, Chen W, Gardner JP, et al. Leukocyte telomeres are longer in African Americans than in whites: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study and the Bogalusa Heart Study. *Aging Cell*. 7:451–458, 2008.
18. 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.
19. 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.
20. Jeanclous 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.
21. 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.
22. 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.
23. Lee DC, Im JA, Kim JH, Lee HR, Shim JY. Effect of long-term hormone therapy on telomere length in postmenopausal women. *Yonsei Med J*. 2005;46:471–479.
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. 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.
26. Nosaka K, Clarkson P-M. Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 27, no. 9, pp. 1263–1269, 1995.
27. 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.

28. 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.
29. 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.
30. 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).
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP, et al. Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. *Am J Clin Nutr*. 86:1420–1425, 2007.
35. 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 Biological Sciences and Medical Sciences*, vol. 56, no. 6, pp. B240–B247, 2001.
36. 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.
37. Samani NJ, Boulby R, Butler R, Thompson JR, Goodall AH. Telomere shortening in atherosclerosis. *Lancet*. 358:472–473, 2001.
38. Satyanarayana A et al. Telomere shortening impairs organ regeneration by inhibiting cell cycle re-entry of a subpopulation of cells. *EMBO J*, 22:4003.4013, 2003.
39. Schmitt CA et al. A senescence program controlled by p53 and p16INK4a contributes to the outcome of cancer therapy. *Cell*, 109:335.346, 2002.
40. 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.
41. Unryn BM, Cook LS, Riabowol KT. Paternal age is positively linked to telomere length of children. *Aging Cell*. 4:97–101, 2005.

42. Vasile E et al. Differential expression of thymosin beta-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.
43. Vasan RS, Demissie S, Kimura M, et al. Association of leukocyte telomere length with circulating biomarkers of the renin-angiotensin-aldosterone system: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 117:1138–1144, 2008.
44. Werner C, M. Hanhoun, T. Widmann et al. Effects of physical exercise on myocardial telomere-regulating proteins, survival pathways, and apoptosis. *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 52, no. 6, pp. 470–482, 2008.
45. Werner C, T. Furrer, 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.
46. 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.

The effect of a endurance training period with cellular Anti-aging purpose on telomerase enzyme content in cardiac tissue and peripheral blood lymphocytes in rats

Hamzeh Akbari Bokani^{*1} – Ali Asghar Ravasi² – Mohammad Reza Akbari³

1.Assistant Professor, Department of exercise physiology, Sport Medicine institute, Sport Science Research Center, Tehran, IRAN 2.Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 3.Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
(Received:2014/8/4;Accepted:2014/12/28)

Abstract

The purpose of present study was the effect of a endurance training period with cellular Anti-aging purpose on telomerase enzyme content in cardiac tissue and peripheral blood lymphocytes in male rats. For this purpose, rats provided from Pasteur institute of Iran were randomly divided in two group, control (n=8) and exercised groupe (n=8). Two week use for environmental adaptation and biological rhythm (first week) and treadmill familiarity (second week). Then the major protocol of this study began after first two week that include a session endurance exercise per day, five day/week. The intensity of exercise was moderate that exercise group do it for 16 weeks while control group was sedentary in this period. Durig first eight weeks the speed of running on treadmill increased from 15 m/min to 25 m/min and time from 15 min to 25 min progressively but this intensity of exercise fixed during second eight week. One day after end of protocol in fasing situation samoles were collected. The results showed the moderate indurance training significant increased in telomerase content in cardiac tissue (p= 0/004) and peripheral blood lymphocytes (p= 0/004). In summary, the results suggested that the moderate (60-65 % vo₂max) and regular physical activity indused activation in telomerase and telomere length stability and exercise and physical activity by telomerase activation in body tissue could increased cellular viability and genomic stability and finally have anti-aging effect.

Keyword

Aging, long term exercise, telomere and telomerase

*Corresponding Author: Email: h_akbari258@yahoo.com, Tel: 021-22885780