

بسمه تعالی

حمزه اکبری، دکترای فیزیولوژی ورزشی (Ph.D)

علی اصغر رواسی، دکترای فیزیولوژی ورزشی (Ph.D)، استاد دانشگاه تهران

محمدخالد دیزجی، دکترای ژنتیک – سلولی ملکولی، (Ph.D)، استادیار پژوهشگاه ژنتیک

محمدجواد ملکی، فوق تخصص جراحی قلب و عروق و توراکس از آمریکا (MD)

محمد رضا کردی، دکترای فیزیولوژی ورزشی (Ph.D)، دانشیار دانشگاه تهران

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

چکیده

هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۱۶ هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر محتوی آنزیم تلومراز بافت قلب و لئوسیت‌های خون محیطی رت‌های نر بود. بدین منظور رت‌های تهیه شده 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 ریت‌های 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 در 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. نتایج نشان داد که تمرینات استقامتی با شدت متوسط موجب افزایش معنادار فعالیت تلومراز در بافت قلبی ($p=0.004$) و لئوسیت‌های خون محیطی ($p=0.004$) شد. به طور کلی می‌توان پیشنهاد داد که فعالیت بدنی منظم با شدت متوسط (۶۵-۶۰٪ Vo_{2max}) 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، تلومراز

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 lymplocytes ($p= 0/004$). In summary, the results suggested that the moderate (60-65 % vo_2max) 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.

Key word: long term exercise, aging, telomere and telomerase

مقدمه

پیری سلولی^۱ یکی از اساسی ترین مراحل در رفتار سلول به حساب می آید که تصور می شود نقش بسیار مهمی در تنظیم طول عمر سلول به عهده دارد (۲۰). فرآیند تکثیر و رشد سلول های سوماتیک اولیه در شرایط آزمایشگاهی^۲ محدود می باشد. در واقع، بعد از یک دوره سریع تکثیر، میزان تقسیم سلولی کند می شود و سلول ها به هم نزدیک می شوند و به محرک های میتوزنیک پاسخ نمی دهند. این فرآیند اصطلاحاً « پیری سلولی یا عدم فعالیت سلولی » نامیده می شود. سلول پیر ویژگی های خاصی را به خود می گیرد که از جمله مهمترین آن ها می توان به افزایش اندازه سلول، مورفولوژی مجزا، تجمع گرانول های لیپوفوسین^۳، تغییرات گسترده در بیان ژنی و کوتاه شدن طول تلومر اشاره داشت (۳، ۱۱، ۱۲). «تلومر» ساختل انتهای کروموزوم در یوکاریوت ها است که وظیفه حیاتی حفاظت از انتهای کروموزوم را بر عهده دارد (۱۹، ۲۷) در انسان و مهره داران تلومر از هزاران تکرار 5'-TTAGGG-3 که به شکل پشت سر هم در انتهای کروموزوم قرار دارند، تشکیل شده است و وظیفه اصلی آن حفاظت و پایداری کروموزوم می باشد (۲۵، ۳۳). در هر تقسیم سلولی به شکل پیوسته بخشی از درازای تلومر کوتاه می شود، کوتاه شدن پیوسته تلومر به جدا شدن یک سری از پروتئین ها از ساختار تلومر و تغییر بیان ژن منجر می شود و از طرفی کوتاه شدن تلومر موجب کاهش قلمرو اثر آن در سرکوب ژن های مجاور می گردد و ژن هایی که تاکنون خاموش بوده اند، روشن می شوند. همچنین کوتاه شدن مداوم تلومر به توقف چرخه سلولی و مرگ سلولی می انجامد (۲، ۴، ۳۷). سه مکانیسم کلی برای افزایش درازای تلومر در موجودات یوکاریوت وجود دارد، مکانیسم غالب استفاده از آنزیم تلومراز است. «تلومراز» یک آنزیم ترانس کریپتاز معکوس است که با اضافه کردن توالی تکراری TTAGGG، مانع کوتاه شدن تلومر می شود و بدون نیاز به الگو موجب سنتز تلومر می شود. در واقع یک آنزیم ریبونکلئوپروتئینی به حساب می آید که از اجزای RNA درونی خودش به عنوان یک الگو به منظور سنتز DNA انتهای کروموزوم ها در ج ریان تقسیم سلولی استفاده می کند (۱۰، ۲۹). یافته ها نشان می دهد که از بین عوامل مؤثر بر طول تلومر و فعالیت آنزیم تلومراز ظاهراً فعالیت بدنی منظم نقش مهمی را ایفاء می کند (۶، ۱۶، ۲۹). انجمن قلب ایالات متحده مطالعه جدیدی را در این زمینه انجام داده و پیشنهاد دادند که فعالیت بدنی طولانی مدت از طریق تأثیر بر کروموزوم ها در نبرد با فرآیند پیری برمی آید (۳۱، ۳۳). در آغاز سال ۲۰۰۸، گروه های تحقیقاتی متعددی ارتباط بین فعالیت بدنی و طول تلومر و فعالیت تلومراز را

¹. Cellular senescence

². In vitro

³. Accumulated lipofuscin granules

در انسان مورد بررسی قرار دادند. طول تلومر در عضلات اسکلتی مردان و زنان فعال و غیرفعال در دو گ روه سنی جوان و پیر (پون سوت و همکاران^۱)، تغییرات تلومر و آنزیم تلومراز در پاسخ به فعالیت های مقاومتی نظیر پاورلیفترهای رقابتی و تفریحی (کادی و همکاران^۲) در سال ۲۰۰۸ انجام گرفتند (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 گسترده ای در زمینه نقش فعالیت بدنی بر بیولوژی تلومر و تلومراز انجام گرفته، ورنر و همکاران (۲۰۰۸) اثرات دوییدن ارادی روی چرخ دوار^۳ را بر میزان فعالیت تلومراز، طول تلومر، IGF-1 و eNOS سلول های عضلانی بافت قلب موش ها مورد بررسی قرار داد (۴۴). یک سال بعد، ورنر و همکاران (۲۰۰۹) بار دیگر نشان دادند که تمرینات ورزشی فعالیت آنزیم تلومراز، پروتئین های متصل شده به تلومر و بیان mRNA ی آن ها را افزایش و سطوح Chk2، p53 و p16 را در آئورت موش ها کاهش داده است (۴۵). لودلوو و همکاران^۴ (۲۰۱۲) در مطالعه ای به بررسی اثرات ورزش طولانی مدت (یک ساله) بر فعالیت آنزیم تلومراز و دینامیک تلومر در رت های هشت هفته ای پرداختند. نتایج نشان داد که فعالیت تلومراز در عضلات اسکلتی گروه ورزش در مقایسه با گروه کنترل بی تحرک افزایش پیدا کرد اما در بافت کبدی و قلب بین دو گروه تغییرات معناداری مشاهده نشد (۲۴).

به طور کل نتایج بدست آمده از مطالعات انجام گرفته در زمینه بیولوژی تلومر، فعالیت تلومراز و نقش ورزش بر آن ها نشان می دهد که تمرینات ورزشی یک محرک قوی برای سیستم تلومری به حساب می آید و این اثرات تنها زمانی مشاهده می شود 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 پروتکل های تمرینی قابل تعمیمی ارائه داده شوند. در زمینه تأثیر فعالیت های ورزشی مختلف روی طول تلومر، فعالیت تلومراز و فرآیند پیری مطالعات گسترده ای انجام گرفته، اما با این وجود نتایج بدست آمده با هم همسو نبوده که شاید دلیل آن اختلاف در متدولوژی و نمونه های مورد استفاده باشد و سوالات زیادی در این زمینه مطرح است. بنابراین با توجه به بررسی پیشینه تحقیق حاضر و فرضیه های موجود و نهایتاً به دلیل عدم دسترسی بودن اطلاعات کافی در مورد نقش فعالیت های ورزشی روی فرآیند پیری، در این تحقیق سعی بر آن شد که تأثیر یک

¹. Ponsot, et al

². Kadi, et al

³. Voluntary wheel running

⁴. Ludlow, A.T, et al

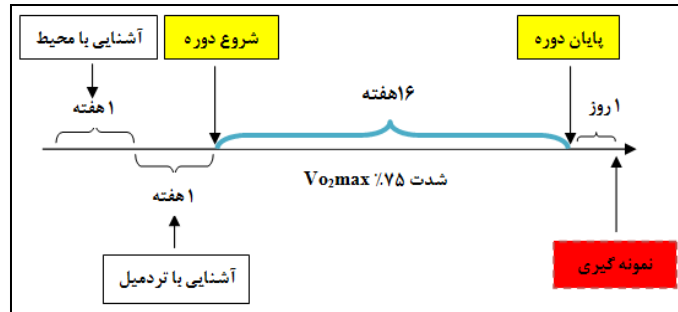
دوره تمرینات استقامتی ۱۶ هفته‌ای با شدت متوسط (۶۰-۶۵٪ Vo₂max) را روی فعالیت آنزیم تلومراز در بافت قلب و لنفوسیت‌های (بالغ) خون محیطی در رت‌های نر مورد بررسی قرار گیرد.

روش‌شناسی تحقیق

روش تحقیق حاضر از نوع تجربی می باشد 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 حیوان خانه 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 فیوپولوژیک 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 ۱۰-۱۵ 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 هشت تایی، گروه کنترل و گروه تجربی (تمرینات استقامتی) قرار دادیم. گروه تجربی به مدت ۱۶ هفته تحت تأثیر تمرینات 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 جمع‌آوری 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 ۱۰-۱۲ 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 آزمودنی‌ها 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).

جدول ۱. پروتکل تمرینات استقامتی

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

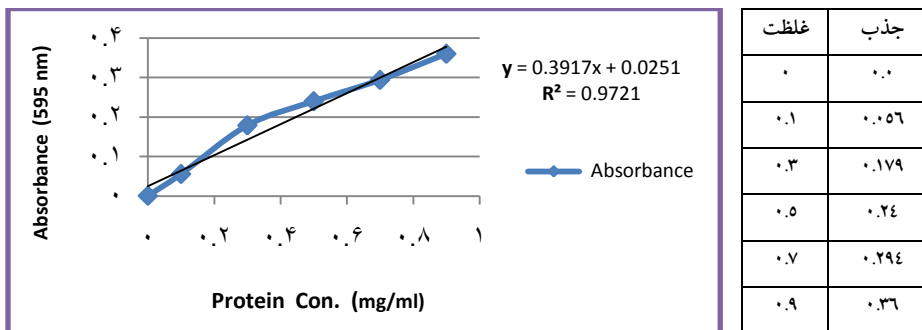
ابزار اندازه‌گیری و روش جمع‌آوری اطلاعات

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 Rat Telomerase

Elisa Kit، شرکت CUSABIO برای سنجش محتوی تلومراز و «تکنیک سنجش ایمنی ساندویچ الایز^۱» که یک روش کمی می باشد، استفاده شد. داخل میکروپلیت های کیت مورد نظر پوشیده از آنتی بادی ویژه تلومراز بود. در این روش تمامی نمونه ها و محلول استاندارد به داخل ول ها پیپت می شود و تلومراز موجود در نمونه ها در کف ول ها به آنتی بادی ویژه می چسبند. مراحل آماده سازی بافت قلب به منظور سنجش میزان محتوی تلومراز به شرح زیر می باشد:

- **همگن کردن و آماده کردن بافت^۲:** ابتدا مقداری از بافت را با تیغ جراحی جدا کرده (۱۰۰ mg) و سپس با یک میلی لیتر PBS 1X در داخل میکروتیوب هموژنیزه کردیم. بعد از Vortex بافت به مدت یک شب در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. بعد از دو چرخه فریز تاو شدن غشاء سلول های بافت شکسته شد و هموژنایز موجود در دمای ۸-۲ درجه سانتی-گراد به مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ g سانتریفیوژ را انجام دادیم. سپس محلول رویی از میکروتیوب ها بلافاصله برداشته شد و سوسپانسیون موجود مورد ارزیابی قرار گرفت و یا در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان مورد نظر نگه داشته شد.



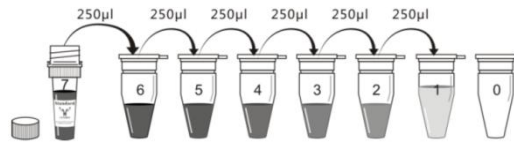
- نمودار ۲. محاسبه سنجش پروتئین بافت های مختلف (mg/ml) با استفاده از منحنی استاندارد برادفورد (نرم افزار Excel)

- **تهیه استاندارد و رسم منحنی استاندارد برای تلومراز:** ۱. ریختن مقدار ۲۵۰ µl از محلول رقیق کننده به هر کدام از میکروتیوب ها (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 بعد از هر پیپت کردن مقدار مورد نظر را به میکروتیوب بعدی انتقال داده تا به S1 (۵۰۰ µl) برسیم (جدول ۲). برای رسم منحنی استاندارد از نرم افزار حرفه ای Curve Exert 1.3 (طبق پیشنهاد کیت) استفاده شد (نمودار ۳). پس از آماده کردن بافت های مورد نظر و استاندارد لازم، پرتکل سنجش محتوی تلومراز به شرح زیر انجام گرفت (جدول ۳).

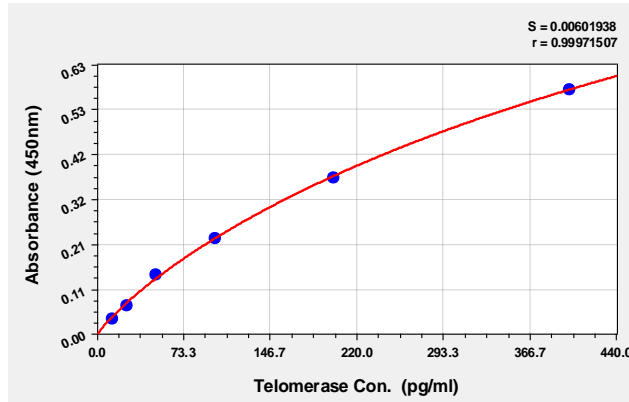
¹. Quantitative sandwich enzyme immunoassay technique

². Tissue homogenates

جدول ۲. مراحل تهیه 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. محاسبه غلظت‌های تلومراز با استفاده از منحنی استاندارد تلومراز (نرم افزار 1.3 Curve Exert)

جدول ۳. مراحل سنجش محتوی تلومراز پس از آماده سازی بافت



* Avidin conjugated Horseradish Peroxidase

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 باعث تجمع سلولهای قرمز خون و در نتیجه افزایش سرعت رسوب آنها می‌گردد و

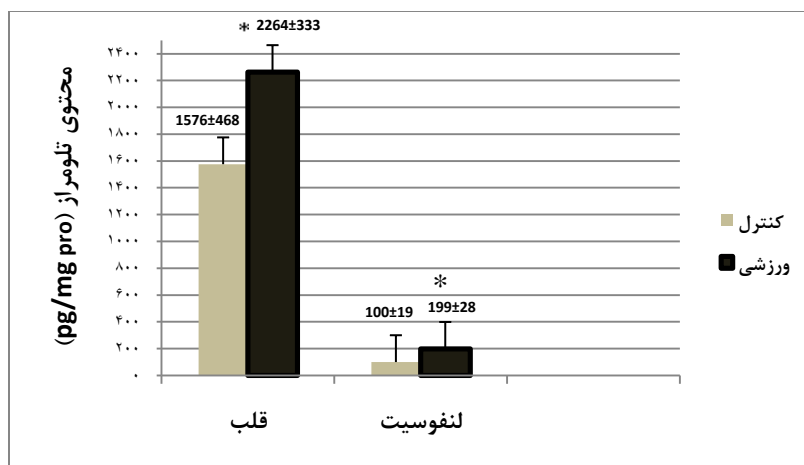
بنابراین لنفوسیت‌ها از لایه بالای سلول‌های قرمز، جمع‌آوری می‌گردد. مراحل این روش به این صورت می‌باشد: (۱). تهیه ۵ ml خون حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA.ACD) (۲). اضافه کردن ۵ ml نرمال سالین سرد (۸/۵g/l) به خون. (۳). تهیه ۳ ml فایکول در یک لوله سانتریفیوژ تمیز. (۴). تهیه ۵-۸ ml خون رقیق شده با نرمال سالین سرد را به آرامی بر روی فایکول اضافه کردیم. (۵). لوله حاوی فایکول و خون را به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. (۶). لایه حاوی لنفوسیت‌ها را به آرامی جدا نموده و به یک لوله سانتریفیوژ 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 Curve Exert 1.3 استفاده شد. و کلیه عملیات آماری توسط نرم افزار SPSS و انجام و سطح معنی داری ($p \leq 0.05$) 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.

نتایج

میانگین و انحراف معیار آنزیم تلومراز و میزان پروتئین استخراج شده در بافت قلب گروه کنترل به ترتیب $3234 \pm$ pg/ml و 19437 و 2.7 ± 12.01 mg/ml و در گروه ورزشی به ترتیب 4246 ± 30192 و 1.82 ± 13.16 mg/ml بود که بر حسب میزان پروتئین بافت، محتوی آنزیم تلومراز در گروه کنترل حدوداً 468 ± 1076 pg/mg_{pro} و در گروه ورزشی 333 ± 2264 pg/mg_{pro} به دست آمد.



نمودار ۴. محتوی غلظت تولومراز (پیکوگرم/میلی گرم 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

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

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

لنفوسیت خون محیطی		قلب		متغیر		
P value	ورزشی	کنترل	P value		کنترل	
-	۸۳۳ ± ۱۷۸	۲۸۸ ± ۵۷.۴	-	۳۰۱۹۲ ± ۷۷۸۹	۱۹۴۳۷ ± ۸۶۲۱	تولومراز (pg/ml)
-	۳.۴ ± ۱.۲	۳.۱ ± ۰.۵۸	-	۱۳.۱ ± ۱.۸	۱۲.۰۱ ± ۲.۷	پروتئین (mg/ml)
* ۰/۰۰۴	۱۹۹ ± ۵۳	۱۰۰ ± ۱۹.۲	* ۰/۰۰۴	۲۲۶۴ ± ۳۳۳	۱۵۷۶ ± ۴۶۸	تولومراز / پروتئین (pg/mg)

سطح معناداری، * : $p \leq 0/01$

تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از لنفوسیت‌های خون محیطی نشان داد که میانگین و انحراف معیار آنزیم تولومراز و میزان پروتئین استخراج شده در گروه کنترل به ترتیب 288 ± 57.4 pg/ml و 3.1 ± 0.58 mg/ml و در گروه تجربی (ورزشی) به ترتیب 833 ± 178 pg/ml و 3.4 ± 1.2 mg/ml بود که بر حسب میزان پروتئین بافت، محتوی آنزیم تولومراز در لنفوسیت‌های خون محیطی گروه کنترل حدوداً 100 ± 19.2 pg/mg pro و در گروه ورزشی 199 ± 53 pg/mg pro به دست آمد. یافته‌های آماری نشان داد که

بین گروه کنترل و ورزشی در محتوی تلومراز لنفوسیت های خون محیطی در پایان یک دوره فعالیت استقامتی با شدت متوسط اختلاف معناداری وجود دارد ($p \leq 0/01$)، (جدول ۱).

بحث و نتیجه گیری

میزان محتوی و فعالیت تلومراز تحت تأثیر استرس های اکسیداتیو مختلفی قرار می گیرد و ممکن است به صورت افزایشی و یا کاهش تنظیم^۱ شود (۴۸). از بین این استرس ها، فعالیت ورزشی و سرطان های مختلف بسیار مورد توجه قرار گرفته - اند (۴۰،۳۹) اثرات ورزش و فعالیت بدنی بر فعالیت تلومراز هنوز ناشناخته اند، در حالی که اثرات سرطان به خوبی آشکار شده اند. لافوس و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند که فعالیت بدنی منظم منجر به فعالسازی آنزیم تلومراز و تثبیت طول تلومر می شود. از طرف دیگر نشان داده شده کاهش توانایی بدن در حفظ طول تلومر ارتباط مستقیم با افزایش خطر بیماری های قلبی - عروقی دارد (۴۲،۳۷،۳۶). لذا ورزش و فعالیت بدنی با شدت های خاص می تواند به عنوان یک نسخه درمانی ویژه همراه با روش های درمانی دیگر به درمان بسیاری از بیماری ها از جمله بیماری های 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 محتوی آنزیم تلومراز بافت قلب و لنفوسیت های خون محیطی رت های نر بود. در بسیاری از مطالعات فعالیت تلومراز به عنوان یک شاخص قوی تر از طول تلومر جهت بررسی قابلیت زیست سلول^۲ یا ثبات ژنتیکی^۳ و فرآیند بیماری ها معرفی شده است (۲۲،۱۸). در پژوهش حاضر میزان محتوی تلومراز بافت قلب و لنفوسیت ها در گروه ی که یک دوره فعالیت ورزشی استقامتی را پشت سر گذرانده بودند، بیشتر از گروه کنترل بود. به نظر می رسد که فعالیت بدنی منظم موجب افزایش فعالیت و محتوی تلومراز در بافت قلب شده است. ورنر و همکاران در مطالعه ای مشابه (۲۰۰۸) نشان دادند که دویدن ارادی روی چرخ دوار^۴ اثرات محافظتی بر سلول های عضلانی بافت قلب موش ها دارد. آن ها بر این باورند که فعالیت بدنی از طریق افزایش پروتئین های متصل شده به تلومر (شلترین^۵) و افزایش فعالیت آنزیم تلومراز با واسطه گری جزء پروتئینی تلومراز (TERT)، IGF-1 و eNOS^۶ می تواند اثرات محافظتی و مفید خود را بر تلومر بگذارد، نتایج آن ها همسو با نتایج پژوهش حاضر است (۴۴).

1. Up and down regulation

2. Cellular viability

3. Genomic stability

4. Voluntary wheel running

5. Shelterin

6. Endothelial nitric oxide synthase

رین بوو و همکاران^۱ (۲۰۱۲) در مطالعه ای به بررسی نقش ورزش کیوگونگ^۲ 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 هم سو بود (۳۲). برخی دیگر از مطالعات عدم تغییر فعالیت تلومراز در بافت قلبی به دنبال یک دوره تمرینات ورزشی طولانی مدت را گزارش کردند. ماتئو و همکاران^۳ (۲۰۱۱) گزارش دادند که بیان mRNA شلترین در سلولهای تک هسته‌ای خون محیطی و سلولهای عضلانی به 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 (۲۵). لودلاو 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 هرچه 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^۴ (۲۰۰۱) در مطالعه‌ای چند جانبه میزان فعالیت تلومراز 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 (۳۰).

فعالیت تلومراز در سلول‌های ایمنی توسط هورمون‌ها و سایتوکاین‌های متنوعی تنظیم می‌شود. هورمون استرادیول (۴۳،۲۳) و TNF- α فعالیت تلومراز را در لنفوسیت‌های T سالم انسان افزایش می‌دهند (ایفروس و همکاران^۵، ۲۰۰۵)، در حالی

¹. Rainbow, et al

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

³. Mattew, et al

⁴. Radak, Z et al

⁵. Effros and et al

که اینترفرون آلفا و $TGF-\beta^1$ اثرات مخالفی دارند (۱۷،۱۵،۱۴). در پژوهش حاضر افزایش محتوی تلومرها در لنفوسیت‌های بالغ خون محیطی رت‌ها در پایان یک دوره تمرینات ورزشی مشاهده شد. افزایش فعالیت و محتوی تلومرها 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 به دنبال استرس اکسیداتیوی نظیر یک فعالیت ورزشی استقامتی جلوگیری به عمل آید. از جنبه ایمونولوژی ورزشی نیز می‌توان افزایش فعالیت تلومرها در لنفوسیت‌های خون محیطی را بدین صورت توجیه کرد، انجام فعالیت‌های طولانی مدت، بدن را به چالش می‌کشد، این گونه فعالیت‌ها باعث ایجاد پاسخ فاز حاد^۲ می‌شوند (۴۶). این پاسخ که در اثر محرک‌های مختلفی مانند تهاجم میکروبی، آسیب‌های شیمیایی و فیزیکی، عمل جراحی، سوختگی، اختلالات ایمونولوژیکی و فعالیت‌های بدنی و مانند آن‌ها به وجود می‌آید، می‌تواند در جهت حفظ هموستاز بدن و همچنین محافظت بدن مفید واقع شود. آشفته‌گی و التهاباتی که به دنبال فعالیت ورزشی در بدن ایجاد می‌شود موجب افزایش تقسیم سلولی لنفوسیت‌ها و در نهایت افزایش فعالیت تلومرها جهت کنترل و حفظ طول تلومر خواهد شد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت بدنی منظم با شدت متوسط (۶۵-۶۰٪ Vo_2max) منجر به فعالسازی آنزیم تلومرها و تثبیت طول تلومر می‌شود و ورزش و فعالیت بدنی از طریق افزایش فعالیت تلومرها در بافت‌های بدن می‌تواند قابلیت زیست سلول، ثبات ژنتیک را بالا ببرد و اثرات ضد پیری خود را بگذارد.

¹. Transforming growth factor beta

². Acute Phase Response (APR)

1. شریعت زاده جنیدی، محمد (۱۳۹۱). « تأثیر ۱۲ هفته تمرین استقامتی بر سطوح پلاسمایی گرلین آسیل دار، -3 PYY . 36 ، دریافت غذا و وزن رت های چاق». نشریه علوم زیستی ورزشی. شماره ۱۴ - پائیز ۱۳۹۱.
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. 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.
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. 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.
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.