Sport and Biomotor Sciences
ورزش و علوم زیست حرکتی

تأثیر مکمل‌دهی کوتاه‌مدت بولاغ‌اوتی بر میزان تخریب DNA پس از فعالیت ورزشی وامانده‌ساز در مردان غیرورزشکار

رامین امیرساسان[1]، افشار جعفری[1]، ثریا نریمانپور سالمی *[2]، حمداله هادی[3]

۱- دانشگاه تبریز

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی دانشگاه تبریز

۳- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه خوارزمی و عضو هیئت علمی دانشگاه علوم انتظامی امین

* نشانی نویسنده مسئول: تبریز، دانشگاه تبریز

Email: amir.hadi1@gmail.com

وصول: ۹۴/۰۸/۰۱ اصلاح: ۹۴/۰۹/۱۴ پذیرش:۹۴/۱۱/۲۷

چکیده

مقدمه و هدف: هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر مکمل‌دهی کوتاه مدت بولاغ‌اوتی بر میزان تخریب DNA پس از فعالیت ورزشی وامانده‌ساز در مردان غیرورزشکار می‌باشد.

روش‌شناسی: ۱۸ مرد غیرورزشکار با دامنه سنی ۲۰-۲۲سال، وزن۶۵-۷۵کیلوگرم، قد ۱۷۵- ۱۸۵سانتی‌متر و اکسیژن مصرفی بیشینه ۳۸ -۴۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم در دقیقه در قالب یک طرح نیمه‌تجربی به صورت تصادفی در دو گروه دریافت‌کننده گیاه بولاغ‌اوتی(روزانه۸۰ گرم به شکل خام در روز به مدت ۱۴ روز) به تعداد ۸ نفر و کنترل به تعداد ۱۰ نفر قرار گرفتند. همه‌ی آزمودنی‌ها پس از مکمل‌دهی، آزمون وامانده‌ساز بروس را انجام دادند. نمونه‌های خونی طی سه مرحله(قبل و بعد از مکمل‌دهی و پس از فعالیت ورزشی) جهت اندازه‌گیری میزان پلاسمایی ۸-هیدرکسی ۲-دزوکسی گوانوزین گرفته شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری از روش تحلیل واریانس با اندازه‌گیری های مکرر و آزمون تعقیبی بونفرونی و آزمون تی مستقل در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان داد مکمل‌دهی کوتاه‌مدت بولاغ اوتی موجب کاهش شاخص پلاسمایی ۸-هیدروکسی ۲ دزوکسی گوانوزین در حالت پایه شده است($p<0.05$). هم چنین، این مکمل‌دهی توانست از افزایش ۸-هیدروکسی ۲ دزوکسی گوانوزین پس از انجام فعالیت ورزشی وامانده‌ساز بکاهد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج تحقیق می‌توان از مکمل‌دهی بولاغ اوتی برای کاهش آسیب های اکسایشی ناشی از فعالیت‌های ورزشی شدید استفاده کرد. با این وجود، با توجه به مطالعات اندک انجام شده در این حوزه، تحقیقات بیشتری مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: مکمل‌دهی کوتاه‌مدت، بولاغ اوتی، تخریب DNA، فعالیت ورزشی وامانده‌ساز.

مقدمه

تشکیل بنیان‌های آزاد نتیجه‌ی طبیعی حاصل از سوخت‌وساز اکسایشی در عضلات اسکلتی و قلبی است. تقریباً ۲ الی ۵ درصد از اکسیژن جریان یافته در دستگاه انتقال الکترون تبدیل به آنیون سوپراکسید ($O2^-$) و دیگر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود(۱, ۲). بنیان‌های آزاد، گونه‌های شیمیایی هستند که شامل یک یا چند الکترون جفت نشده بوده که می‌تواند به صورت مستقل در همه سلول‌های زنده تولید شود. بیشتر بنیان‌های آزاد که در محیط بدن هستند منشاء آنها گونه‌های فعال اکسیژن و یا گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) می‌باشد. گونه‌های فعال اکسیژن شامل بنیان‌های آزاد وابسته به اکسیژن از جمله سوپراکسید ($O2^-$)، هیدروکسیل (OH^-)، الکو اکسیل (RO)، پراکسیل (ROO) و هیدرو پراکسیل (ROOH) و

گونه‌های فعال نیتروژن شامل بنیان‌های آزاد نیتریک اکسید (NO) و نیتروژن دی اکسید (NO2) و اکسایندهی قوی پراکسی نیتریک (ONOO) می‌باشد(۳).

تأثیر گونه‌های فعال بر سلامتی و عملکرد افراد به‌ویژه غیر ورزشکاران هنوز به طور کامل ثابت نشده است و برای چندین سال دیدگاه عمومی این بوده است که گونه‌های فعال در آسیب عضلانی، اختلال در دستگاه ایمنی، فشار اکسایشی و خستگی نقش دارد(٤-٦). مطالعاتی نشان داده‌اند، در افرادی که فعالیت ورزشی منظم انجام نمی‌دهند یا افرادی که در فعالیت‌های ورزشی شرکت نمی‌کنند، تاثیر فعالیت ورزشی واماندهساز بر تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن بیشتر می‌باشد(٤-٦). با افزایش جریان اکسیژن در میتوکندری در هنگام ورزش انتظار می‌رود تولید ROS در ماهیچه‌های قلبی و اسکلتی افزایش یابد. برای تایید این مطلب، در موش‌های صحرایی که تحت ورزش واماندهساز قرارگرفته بودند تولید بنیان‌های آزاد در بافت هموژن قلب افزایش نشان داد(۷). هم‌چنین، ۳۰ دقیقه انقباض پیوسته تکراری در عضو پشتی موش صحرایی باعث افزایش تولید بنیان‌های آزاد سیاهرگی به اندازه ۷۰ درصد سطح استراحتی شد(۸) .در سال ۱۹۷۸، دیلارد و همکاران برای اولین بار نشان دادند که فعالیت دوچرخه‌سواری به مدت ٦۰ دقیقه با ۲۵ تا ۷۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه باعث پراکسیداسیون لیپیدی حاصل از بنیان‌های آزاد می‌شود. آن‌ها افزایش ۱/۸ برابری را در سطح پنتان بازدمی مشاهده کردند(۹).

سازوکارهایی که ورزش می‌تواند باعث تولید بنیان های آزاد شود عبارتند از افزایش رهایش هورمون‌های کاتاکولامین در هنگام ورزش که با اکسایش خودکار می‌تواند باعث تولید بنیان‌های آزاد و آسیب‌های عضلانی بعدی در ورزش(در کوفتگی تاخیری) به لحاظ التهاب و آزاد شدن سوپر اکسید از نوتروفیل NADH اکسیداز شود(۱۰, ۱۱). سازوکار دیگری که در دوره‌های ورزش شدید شاید باعث افزایش فشار اکسایشی می‌شود مربوط به هیپوکسی و اکسیژن‌گیری مجدد در ماهیچه‌های فعال است که در یک چرخه‌ی انقباض و استراحت عمل می‌کنند. در طی انقباض، رگ ها فشرده و یک شرایط ایسکمی رخ می‌دهد که باعث هیپوکسی می‌شود. در طی استراحت، جریان دوباره و اکسیژن گیری مجدد بعد از هیپوکسی شاید باعث کاهش تجمع اکسیژن در زنجیره الکترونی میتوکندریایی شود و در نتیجه یک پدیده‌ایی که به کاهش استرس معروف است رخ می‌دهد. در اکسیژن گیری دوباره کاهش پی در پی در مونو - الکترونیک شاید باعث تبدیل مولکول اکسیژن به بنیان سوپر اکسید شود(۱۲).

بنیان‌های آزاد می‌توانند موجب آسیب بخش‌های مختلف DNA سلولی نیز بشوند. این آسیب‌ها می‌توانند در اسیدهای نوکلئیک با نزدیک کردن بازها و گروه‌های قندی به یکدیگر و ایجاد اتصالات عرضی با سایر مولکول‌ها یا ازهم گسستن رشته‌های نوکلئوتیدی همراه باشد(۱۳). یکی از مخرب‌ترین حمله‌های بنیان‌های آزاد، حمله بنیان‌های هیدروکسیل حاصل از واکنش فنتون به بازهای DNA است، که سبب اضافه شدن OH به پیوندهای دوگانه پرالکترون موجود در پورین و پیریمیدین می‌شود(١٤). روش‌های مختلف اندازه‌گیری آسیبDNA بیشتر از همه شامل پورین‌های اکسید شده، فرمامید و پیریمیدین ها، ۷- متیل گوانین، ۳- متیل آدنین، ٦- متیل گوانین، ۸- نیتروگوانین، و ۸- هیدروکسی ۲- دزوکسی گوانوزین می‌باشد که به دلیل پتانسیل موتاسیونی بسیار زیادی که ۸- هیدروکسی ۲- دزوکسی گوانوزین دارد بخش زیادی از پژوهش‌ها متوجه اندازه‌گیری این شاخص بوده است. تعداد مطالعاتی که القا در تغییر ساختارDNA در آزمودنی‌های انسانی را در نتیجه ورزش واماندهساز ارائه کرده‌اند رو به افزایش می‌باشد(۱۵-۱۷). سومیدا و همکاران (۱۹۹۷) تاثیر یک جلسه فعالیت بدنی (شامل دویدن واماندهساز روی نوارگردان) را بر دفع ادراری ۸- هیدروکسی ۲- دزوکسی گوانوزین مطالعه کردند و به دلیل عدم مشاهده تغییرات معنی‌دار در مقدار آن، پیشنهاد کردند که چندان آسیبی به DNA وارد نمی‌شود. همین گروه گزارش کرده‌اند فعالیت واماندهساز، میزان ۸- هیدروکسی ۲- دزوکسی گوانوزین را در افراد تمرین نکرده افزایش نداده است، ولی مکمل‌دهی بتاکاروتن باعث شده تا مقدار آسیب یکنواخت وارده بر DNA کاهش یابد(۱۵). از سوی دیگر آسیب به DNA سلول‌های سفید خون پس از یک جلسه فعالیت بدنی گزارش شده است. هم چنین، استفاده از روش الکتروفورز تک سلولی نشان داد، دویدن روی نوارگردان تا سرحد واماندگی باعث شد تا آسیب وارد شده بر DNA تک‌رشته‌ای افزایش یابد در این تحقیق مرگ سلولی لنفوسیت‌ها نیز گزارش شده است(۱۵).

محققین و متخصصین ورزشی و پزشکی همواره درصدد آن بوده‌اند که به شیوه‌های مختلف، از بروز فشار اکسایشی و تخریب لیپیدی، پروتئینی و DNA، (به‌ویژه پس از فعالیت ورزشی) جلوگیری کرده و یا دست کم آن را به پایین‌ترین حد ممکن برسانند. یکی از شیوه‌های مقابله با اثرات نامطلوب فشار اکسایشی ناشی از فعالیت‌های ورزشی سنگین و شدید، استفاده از مکمل‌دهی‌های کوتاه‌مدت و بلندمدت مواد ضد اکسایشی طبیعی و خوراکی است. زیرا، بر اساس شواهد علمی این نوع مکمل دهی ممکن است، ضمن افزایش عملکردهای ورزشی، باعث تقویت دفاع‌های ضد اکسایشی و کاهش آسیب های اکسایشی ناشی از انجام فعالیت‌های ورزشی شود(۱۶, ۱۷). در سال‌های اخیر، علاقه زیادی روی منابع طبیعی برای یافتن مکمل‌های ضد اکسایشی خوراکی و نقش مصرف این ترکیبات در محافظت بدن، در برابر صدمات ناشی از فشار اکسایشی به وجود آمده است. به عنوان مثال، در این راستا می‌توان به اثرات مفید بولاغ اوتی (علف چشمه) به عنوان یک ضداکساینده خوراکی اشاره داشت(۱۸). گیاه بولاغ اوتی از تیره شب بو است. گیاهی علفی پایا با ساقه های بالا رونده است که ساقه آن چهار گوش، برگ های آن متناوب و شبیه به پر است. این گیاه در کنار جویبارها، چشمه‌ها و به طور عمده در مجاورت آب‌های زلال جاری می‌روید. بولاغ اوتی دارای آهن، ید، منگنز، کلسیم و هم چنین یک گلوکز ید دار و محلول در آب به نام گلوکوناستورین یا ایزوسولفوسیانواتیل بنزن است. به علاوه، به مقدار زیاد دارای ویتامین های A، C و ویتامین E به مقدار کمتر است(۱۹). نشان داده شده است که بولاغ اوتی تخریب اکسایشی DNA را در شرایط آزمایشگاهی در سلول‌های انسانی کاهش می‌دهد. به طور ویژه، گیل و همکاران(۲۰) نشان دادند که بولاغ اوتی، (که به ازای هر گرم خود، دارای بیشترین غلظت گلوکوزینولات‌ها و کاروتنوئیدها در میان سبزیجات است)، در سیگاری ها، از DNA لنفوسیت در برابر تخریب محافظت می‌کند. هم‌چنین، مارک و همکاران، در تنها مطالعه‌ای که به بررسی تأثیر مکمل‌دهی کوتاه و بلندمدت بولاغ اوتی بر تخریب DNA و پراکسیداسیون لیپید سلول تک‌هسته‌ای محیطی ناشی از فعالیت ورزشی پرداخته است، اثرات ضد اکسایشی بالقوه بولاغ اوتی را بر تخریب DNA و پراکسیداسیون لیپید ناشی از فعالیت ورزشی گزارش کرده است(۲۱).

لذا، از آنجایی که در داخل کشور تاکنون اثرات مکمل دهی بولاغ اوتی و فعالیت‌های ورزشی(به خصوص فعالیت ورزشی شدید و وامانده‌ساز) به طور توامان مورد مطالعه قرار نگرفته است و با توجه به تنها مطالعه‌ای که در خارج از کشور وجود دارد که آن نیز تخریب DNA و پراکسداسیون لیپیدی را در سلول تک‌هسته‌ای محیطی مطالعه کرده است، و هم‌چنین با توجه به نقش تخریب DNA در بروز بیماری‌های مختلف از جمله سرطان، هنوز این سوال مطرح است که آیا مکمل‌دهی کوتاه‌مدت بولاغ اوتی می‌تواند با کاهش تخریب DNA ، از بروز آسیب‌های سلولی و اکسایشی ناشی از انجام فعالیت های ورزشی هوازی نسبتاً شدید در افراد غیر ورزشکار بکاهد و دست کم باعث کاهش اثرات نامطلوب فشار اکسایشی و شاخص‌های آن شود؟ بنابراین، مطالعه ی حاضر قصد دارد تا با بررسی تأثیر مکمل‌دهی کوتاه‌مدت بولاغ اوتی بر تخریب DNA پلاسمایی مردان غیرورزشکار بر برخی از ابهامات و تناقضات موجود پاسخ دهد.

روش‌شناسی

تحقیق حاضر از نوع کاربردی است. تحقیق در قالب طرح‌های نیمه‌تجربی دو گروهی (تجربی و کنترل) با اندازه‌گیری مکرر (سه مرحله‌ای) اجرا شد. جامعه آماری این پژوهش شامل دانشجویان پسر غیر ورزشکار و غیر سیگاری بود که فعالیت ورزشی منظم انجام نمی‌دادند (غیر ورزشکار و غیرسیگاری بودن آن‌ها با استفاده از پرسش‌نامه‌ای که در احتیار دانشجویان قرار گرفت مشخص شد). تعداد ۲۰ نفر از دانشجویان پسر غیر ورزشکار برای شرکت در این تحقیق داوطلبانه طی فراخوان و با رضایت خودشان به عنوان نمونه پژوهش انتخاب شدند و در قالب یک طرح نیمه‌تجربی تصادفی در دو گروه دریافت‌کننده بولاغ اوتی (روزانه ۸۰ گرم به شکل خام در روز در بین وعده ناهار(۲۱) به مدت چهارده روز) و کنترل(با توجه به این که گیاه بولاغ اوتی به شکل خام مصرف شد، بنابراین هیچ دارونمایی جایگزین گیاه بولاغ اوتی نشد) (با معیارهای سن، وزن، قد، درصد چربی، VO_{2max}، رژیم غذایی و عدم مصرف مکمل و دارو همگن‌سازی شد) توزیع شدند. برای کنترل تغذیه آزمودنی‌ها از پرسش‌نامه یادداری ۲۴ ساعته رژیم غذایی استفاده شد. هم‌چنین تغذیه آزمودنی‌ها از نظر مصرف آنتی‌اکسیدان‌های

خوراکی و صنعتی نیز کنترل شد.

روش جمع‌آوری داده‌ها

آزمودنی‌های داوطلب در دو گروه همگن شده دریافت‌کننده بولاغ اوتی با میانگین و انحراف استاندارد سنی ۰/۷۶±۲۱سال، وزن ۱۰/۱۶±۷۱/۱۸کیلوگرم، قد ۹/۱۵±۱۷۹/۲۵ سانتی متر و اکسیژن مصرفی بیشینه ۲/۸۲±۴۰/۶۲ میلی لیتر بر کیلوگرم در دقیقه و کنترل به تعداد ۱۰ نفر با میانگین و انحراف استاندارد سنی ۱/۷۹±۲۱/۱۰ سال، وزن ۸/۹۵±۶۸ کیلوگرم، قد ۵/۲۰±۱۸۰/۳ سانتی‌متر و اکسیژن مصرفی بیشینه ۳/۶۷±۳۹/۸۰ میلی لیتر بر کیلوگرم در دقیقه به صورت تصادفی جایگزین شدند. البته پس از اتمام طرح تحقیق، دو نفر از شرکت کنندگان گروه مکمل، از مطالعه کنار رفتند و بنابراین گروه مکمل با ۸ نفر و کنترل با ۱۰نفر به کار خود پایان دادند. نمونه‌خونی اولیه در حالت پایه و در حالت ناشتا قبل از شروع مکمل‌سازی از ورید پیش آرنجی بازوی راست همه‌ی آزمودنی‌ها گرفته شد. خون‌گیری دوم پس از تکمیل دوره ی ۱۴ روزه مکمل‌سازی و قبل از شروع فعالیت ورزشی وامانده‌ساز و نمونه سوم پس از اجرای فعالیت ورزشی وامانده‌ساز، گرفته شد(یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم خون‌گیری پس از تست قبل از مکمل‌سازی به دلیل مسائل مالی بود). در هر مرحله به اندازه ۵ میلی لیتر خون برای سنجش مقادیر پلاسمایی شاخص تخریبDNA(۸-هیدرکسی۲-دزوکسی گوانوزنین) گرفته شد. همه سنجش‌ها در شرایط یکسان(ساعت ۹-۱۰ صبح، دمای ۲۶-۲۸ درجه سانتی گراد و رطوبت ۵۰ درصد) انجام شد. به علاوه، آزمودنی‌ها ۴۸ ساعت قبل از انجام آزمون، از انجام هرگونه فعالیت بدنی سنگین منع و وعده غذایی آن‌ها قبل از آزمون مشابه بود.

فعالیت ورزشی وامانده‌ساز

از آزمون هوازی بروس روی نوارگردان به عنوان فعالیت ورزشی وامانده‌ساز استفاده شد. آزمون بیشینه بروس روی نوارگردان، متداول‌ترین و معتبرترین آزمون برآورد غیرمستقیم اکسیژن مصرفی بیشینه در آزمایشگاه است. این آزمون، در هفت مرحله اجرا می‌شود و مدت هر مرحله سه دقیقه است. افزایش شدت فعالیت از یک مرحله به مرحله بعد، با افزایش شیب و سرعت همراه می‌باشد. نخستین مرحله این آزمون با سرعت ۱/۷ مایل در ساعت(۲/۷۴ کیلومتر در ساعت) و شیب ۶ درصدآغاز شد. سپس سرعت و شیب با یک نسبت ثابت در هر مرحله اضافه شد. این آزمون در منابع پزشکی و ورزشی معمولاً به عنوان آزمون فشار معرفی می‌شود. هم‌چنین از معادله زیر برای تخمین حداکثر اکسیژن مصرفی استفاده شد.

VO_{2max}=[۱۴/۷۶]-[۰/۴۵۱(زمان)+۱/۳۷۹(زمان)-۲]
[۰/۰۱۲(زمان)۳]

سنجش مقادیر پلاسمایی ۸-هیدرکسی ۲-دزوکسی گوانوزنین به روش اسپکتروفتومتری

پس از خون‌گیری به اندازه ۵ میلی لیتر،کل خون هپارینی را به مدت۱۰ دقیقه با ۳۰۰ دور/ دقیقه سانتروفیوژ کرده و سپس پلاسما را جدا نموده پس از آن گلبول‌های قرمز چهار بار توسط محلول ۰/۹٪ کلرید سدیم شستشو داده شد و گلبول‌های قرمز لیز شده جدا گردید.

برای سنجش ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین، نمونه خون در ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی که حاوی سلول‌های لکوسیت(گلبول‌های سفید) می باشد جدا می شود توسط محلول‌های کیت استخراج، DNA لکوسیت‌ها استخراج و تحت اثر ۰/۸واحد آنزیم P1-نوکلئاز و یک واحد آنزیم اسید فسفاتاز در محلول حاوی یک میلی مول EDTA و ۱۰ میلی مول استات سدیم (PH=۴/۵) و شرایط0C ۳۷ به مدت ۳۰ دقیقه قرار می گیرد. سپس مجموعه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده، محلول رویی فیلتر می‌گردد محلول فیلتر شده به ستون دستگاه HPLC تزریق می‌گردد. استاندارد۸-هیدروکسی۲-دزوکسی گوانوزین با غلظت ۵ نانوگرم بر میلی لیتر نیز به دستگاه تزریق می‌شود و اوج استاندارد آن ثبت می‌گردد. براساس زمان بازدارندگی در ستون ODS-Ultrasphere به ابعاد nm 4.6×250 مجهز به دتکتور الکتروکمیکال و سطح زیر منحنی، غلظت نمونه استاندارد۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین بر حسب تعداد بر ۱۰۵ واحد گوانوزین ارزیابی می‌شود و واحد آن µmol/mg.p می‌باشد.

روش تجزیه و تحلیل آماری

از آمار توصیفی برای محاسبه میانگین و انحراف استاندارد و رسم نمودارها و جداول استفاده شد. سپس فرضیه‌های تحقیق (پس از تایید طبیعی بودن داده‌ها: نتایج کلموگروف اسمیرنف) به کمک روش تحلیل واریانس مکرر و آزمون تعقیبی بونفرونی

و آزمون تی مستقل در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 21 مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

در جدول ۱، مشخصات آزمودنی‌های دو گروه از جمله سن، وزن، قد، درصد چربی و اکسیژن مصرفی بیشینه و هم‌چنین مقدار پایه پلاسمایی شاخص تخریب DNA (۸- هیدرکسی ۲-دزوکسی گوانزنین) ارائه شده است.

جدول ۱. ویژگی‌های فردی آزمودنی‌ها

گروه	سن (سال)	وزن (کیلوگرم)	قد (سانتی متر)	درصد چربی(٪)	اکسیژن مصرفی بیشینه (میلی لیتر بر کیلوگرم بر دقیقه)	۸-هیدرکسی ۲-دزوکسی گوانزنین (میلی مول/میلی گرم)
بولاغ اوتی	۲۱±۰/۷۶	۷۱/۱۸±۱۰/۱۶	۱۷۹/۲۵±۹/۱۵	۱۵/۳٤±۳/۱۱	٤۰/۶۲±۲/۸۲	۰/٤۷±۰/۱۳
کنترل	۲۱/۱۰±۱/۷۹	۶۸±۸/۹۵	۱۸۰/۳±۵/۲۰	۱٤/۹۶±۳/۲۸	۳۹/۸۰±۳/۶۷	۰/۳۹±۰/۱٤

نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌های تکراری مربوط به ۸-هیدرکسی ۲-دزوکسی گوانوزین نشان می‌دهد اثر اصلی مراحل اندازه‌گیری (p<۰/۰۰۱و F =۳۸۲/۹۹)، اثر اصلی تفاوت‌های گروهی (p<۰/۰۰۱و F =۲۳/٤۳۸) و هم‌چنین تعامل تفاوت گروهی و مراحل اندازه‌گیری (p<۰/۰۰۱و F =۳٤/۷۰۱) معنی‌دار است.

نتایج تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر (درون‌گروهی) به تفکیک برای هر کدام از گروه‌های آزمایشی نشان داد که اثر مراحل تمرین در گروه بولاغ اوتی (p<۰/۰۰۱ و F =۷۵/۲۲)، تفاوت معنی‌داری دارد، هم‌چنین در گروه کنترل (p<۰/۰۰۱و F =٤۰۳/٤۹۵) نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. نتایج آزمون‌های تعقیبی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین مرحله ۱ و۲ (قبل از مکمل‌دهی و بعد از مکمل‌دهی در حالت پایه) (p=۰/۰۰۱)، ۱ و۳ (قبل از مکمل‌دهی و بعد از فعالیت ورزشی واماندەساز) (p<۰/۰۰۱) و ۲ و۳(بعد از مکمل‌دهی در حالت پایه و بعد از فعالیت ورزشی واماندەساز) (p<۰/۰۰۱) در گروه مکمل‌دهی بولاغ اوتی و هم‌چنین بین مرحله ۱ و ۳ (قبل از مکمل‌دهی و بعد از فعالیت ورزشی واماندەساز) (p<۰/۰۰۱) و ۲ و۳ (بعد از مکمل‌دهی در حالت پایه و بعد از فعالیت ورزشی واماندەساز) (p<۰/۰۰۱) در گروه کنترل می‌باشد. بنابراین فرضیه تحقیق مبنی بر این که مکمل دهی کوتاه‌مدت (۱٤ روزه) بولاغ اوتی بر میزان پلاسمایی ۸-هیدرکسی ۲-دزوکسی گوانوزین بلافاصله بعد از فعالیت واماندەساز در مردان غیر ورزشکار تاثیرگذار است تایید می‌شود.

هم‌چنین نتایج آزمون تی مستقل برای شاخص ۸-هیدرکسی ۲-دزوکسی گوانزنین در هر یک از مراحل اندازه‌گیری، نشان داد که تنها در مرحله پس از فعالیت ورزشی واماندەساز بین دو گروه بولاغ اوتی و کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد(t= -٦/۲٤٦ و p<۰/۰۰۱) که این امر نشان‌دهنده این است که فعالیت ورزشی واماندەساز باعث افزایش معنی‌دار تخریب DNA گردیده است و مکمل‌دهی بولاغ اوتی باعث کاهش معنی‌دار تخریب DNA شده است.

نتایج آزمون تی مستقل، در ابتدای شروع مطالعه، نشان می‌دهد که هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین مقادیر پیش‌آزمون دو گروه بولاغ اوتی و کنترل مشاهده نشد(جدول ۲). لذا می‌توان مقادیر مربوط به افراد دو گروه بولاغ اوتی و کنترل را قبل از اجرای مکمل‌دهی همگن فرض نمود.

جدول ۲. نتایج آزمون تی مستقل برای شاخص های آنتروپومتریکی و فیزیولوژیایی قبل از اجرای قرارداد ورزشی

شاخص ها	معنی داری
سن	۰/۸۸۵
وزن	۰/٤۹۰
قد	۰/۷۶۲
شاخص توده بدنی	۰/٤۸۲
درصد چربی	۰/۵۲۸
اکسیژن مصرفی بیشینه	۰/۶۰۹
۸-هیدرکسی ۲-دزوکسی گوانزنین	۰/۲۳۹

در جدول ۳، میانگین و انحراف استاندارد مقادیر پلاسمایی شاخص‌های تخریب DNA (۸-هیدرکسی ۲-دزوکسی گوانزنین) پس از مکمل‌دهی و پس از قرارداد فعالیت ورزشی وامانده‌ساز در دو گروه بولاغ اوتی و کنترل ارائه شده است.

جدول ۳. شاخص پلاسمایی ۸- هیدرکسی ۲- دزوکسی گوانوزین(Ng/ml) اندازه گیری شده در گروه مکمل بولاغ اوتی و کنترل بعد از شروع مطالعه

گروه	مرحله	میانگین	انحراف استاندارد
مکمل بولاغ اوتی	قبل از فعالیت	۰/۳۷	۰/۰۷
	بعد از فعالیت	۱/۵۶	۰/۳
کنترل	قبل از فعالیت	۰/۳۵	۰/۱۰
	بعد از فعالیت	۲/۵	۰/۳۲

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از مطالعه حاضر، تأثیر مکمل‌دهی کوتاه‌مدت بولاغ اوتی بر تخریب DNA پس از فعالیت ورزشی وامانده‌ساز در مردان غیر ورزشکار بود. بر اساس نتایج تحقیق فعالیت ورزشی وامانده‌ساز موجب افزایش معنی دار۸- هیدروکسی ۲ دزوکسی گوانوزین(افزایش تخریب DNA) شد. این نتیجه با یافته های رحیمی و همکاران(۲۰۱۱) و احمد حسین و همکاران(۲۰۱۱) همسو است(۲۲, ۲۳). هم‌چنین، درتناقض با یافته های مطالعه حاضر، سومیدا و همکاران (۱۹۹۷) و هامورسو و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر یک جلسه فعالیت بدنی (شامل دویدن وامانده‌ساز روی نوارگردان) را بر دفع ادراری ۸- هیدروکسی ۲- دزوکسی گوانوزین مطالعه کردند و به دلیل عدم مشاهده تغییرات معنی‌دار در مقدار آن نشان داده‌اند چندان آسیبی به DNA وارد نمی‌شود. همین محققین گزارش کرده‌اند فعالیت وامانده‌ساز، میزان ۸- هیدروکسی ۲- دزوکسی گوانوزین را در افراد تمرین نکرده افزایش نداده است، ولی مکمل‌دهی بتاکاروتن باعث شده تا مقدار آسیب وارده بر DNA کاهش یابد(۵, ۱۵). مدت، شدت و شرایط فعالیت ورزشی از جمله عواملی‌اند که در نشان دادن میزان بروز علائم ناشی از تخریب DNAموثرند. هم‌چنین هامورسو و همکاران(۲۰۱۰)، در مطالعه خود روی کشتی‌گیران و افراد بی‌تحرک به این نتیجه رسیدند که ۱/۵ ساعت فعالیت ورزشی باعث تغییر معنی‌داری در تخریب DNA در کشتی‌گیران و افراد بی تحرک نمی‌شود. به علاوه شواهد نشان می‌دهد طرح فعالیت ورزشی مورد استفاده تاثیر مهمی در تخریب مولکول DNA دارد(۵, ۱۵). به نظر می‌رسد نوع نمونه گیری(ادرار، سرم) نیز بر اختلاف نتایج مطالعه حاضر با مطالعه سومیدا و همکاران مؤثر باشد، به گونه‌ای که در مطالعه حاضر، تخریبDNA با سنجش مقدار پلاسمایی ۸ هیدروکسی ۲ دزوکسی گوانزین، برآورد شده است، در حالی که سومیدا و همکاران، مقدار ادراری ۸ هیدروکسی ۲دزوکسی گوانزین را به عنوان شاخص تخریب DNA مد نظر قرار داده اند. بنابراین، یکی از دلایل اختلاف مطالعه حاضر با مطالعات دیگر را می‌توان به نوع نمونه‌گیری در سنجش تخریب DNA نسبت داد. دلایل احتمالی افزایش تخریب DNA به دنبال فعالیت ورزشی وامانده‌ساز، واکنش ضداکسایندهای درون‌زا و بنیان‌های آزاد تولیدشده در اثر فعالیت ورزشی وامانده‌ساز می‌باشد که درنهایت منجر به کاهش مواد ضداکسایشی درون زا و افزایش تخریب DNA می‌شود.

هم‌چنین، تجزیه وتحلیل داده‌های تحقیق حاضر نشان داد مکمل‌سازی کوتاه مدت بولاغ اوتی باعث می‌شود که افزایش تخریب DNA در حالت پایه و پس از فعالیت ورزشی وامانده‌ساز در گروه مکمل سازی نسبت به گروه کنترل کمتر باشد. در مورد تحقیقاتی که با تحقیق حاضر همخوانی دارند می‌توان به تحقیق مارک و همکاران(۲۰۱۲) اشاره کرد. در حقیقت این تنها تحقیقی است که به بررسی تاثیر مکمل‌دهی کوتاه و بلندمدت بولاغ اوتی بر تخریب DNA و پراکسیداسیون لیپید سلول تک‌هسته‌ای محیطی ناشی از فعالیت ورزشی پرداخته است و اثرات ضد اکسایشی بالقوه بولاغ اوتی را بر تخریب DNA و پراکسیداسیون لیپید ناشی از فعالیت ورزشی گزارش کرده است(۲۱). هم‌چنین کاساموا و همکاران (۲۰۱۱)، در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که مکمل‌دهی ۱۵ روزه عصاره بولاغ اوتی باعث کاهش تخریب DNA در سلول‌های خونی و مغز استخوان می‌شود(۱۸). سازوکار احتمالی تاثیرگذاری بولاغ اوتی درکاهش ۸- هیدروکسی۲- دزوکسی گوانوزین به این صورت است که بولاغ اوتی با توجه به دارا بودن ویتامین‌های A، C و به مقدار کمتری E، که جزو آنتی‌اکسیدان‌های قوی به شمار می‌روند و از طریق افزایش آنزیم‌های ضداکسایشی و هم‌چنین کاهش سوپر اکسید موجب کاهش تخریب DNA می‌گردد(۲۱). ویتامینE مهم‌ترین ماده ضداکسایشی زنجیره‌شکن محلول در چربی بدن است. این

ویتامین با اتصال به لیپوپروتئین‌های غشای سلول، از اکسایش اسیدهای چرب غیراشباع در غشای سلول جلوگیری می‌کند(١٤). چنانکه گروه تحقیقاتی لوکا اولینی (١٩٩٩) و زایدی (٢٠٠٤) بر روی حیوانات نشان دادند که مصرف ویتامین E موجب کاهش مقدار مالون‌دی‌آلدهید پلاسما گردید(٢٤, ٢٥). هم‌چنین، یواهان هانگ و همکاران (٢٠٠٠) نشان دادند که مصرف روزانه IU ٤٠٠ ویتامین E طی دو ماه در زنان و مردان غیرسیگاری باعث کاهش معنی‌دار شاخص آسیب اسیدهای هسته ای (٨- هیدروکسی٢- دزوکسی گوانوزین ادراری) می گردد(٢٦). در تحقیقی دیگر مکنلوتی (٢٠٠٥) تاثیر آلفا توکوفرول را بر روی بازیکنان بسکتبال سنجید و نشان داد که مصرف IU ٨٠٠ از آلفا توکوفرول برای ٢ ماه موجب افزایش ظرفیت ضد اکسایشی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بازیکنان بسکتبال بعد از هر مسابقه گردید(٢٧). در مطالعه مروری رابرت و جان (٢٠١٠) ، بیان شده است که اطلاعات موجود از مکمل دهی دراز مدت، از نقش ویتامین E، در جلوگیری از تخریب DNA، در بیماران دیابتی حمایت می‌کند. در حالی که نقش ویتامین E در کاهش خطر سرطان در دیابتی ها، هنوز نامشخص است، کاهش تخریب DNA در شرایط طبیعی، ممکن است شواهدی را فراهم کند که ویتامین E، پتانسیل جهش در بافت های دیابتی را کاهش می‌دهد(٢٦). درمان از طریق انسولین در موش های دیابتی مقدار ٨- هیدروکسی ٢ دزوکسی گوانوزین کلیه و کبد را تا زمانی که ویتامین E تجویز شده بود، کاهش نداد که این امر نقش این ویتامین را در تخریب DNA در دیابتی‌های نوع ١ و ٢ نشان می‌دهد. ویتامین E، افزایش ROS ناشی از دیابت را در اختلالات دیابتی سرکوب می‌کند. هم‌چنین در این مطالعه به نقش ویتامین E در کاهش پراکسیداسیون چربی در افراد دیابتی نیز اشاره شده است(٢٦). هم‌چنین ویتامین C ویتامینی محلول در آب است که در بخش سیتوپلاسمی سلول و در مایع برون سلولی قرار دارد(٢٨). اسید اسکوربیک، ضداکساینده غالب در پلاسما است و بنیان‌های آزاد موجود در پلاسما را حذف کرده و از ورود آن‌ها به داخل لیپوپروتئین‌های کم چگال خون جلوگیری می‌کند(٢٩). در تحقیقی خاساف[1](٢٠٠٣) در ٦٠ مرد سالم غیرورزشکار نشان داد که مصرف ویتامین C موجب شد بعد از یک فعالیت درمانده‌ساز بر روی چرخ کارسنج (٤٥دقیقه با ٧٠ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز در لنفوسیت‌ها و ماهیچه‌های اسکلتی افزایش داشت(٣٠). سوب هادرا[2] (٢٠٠٨) در تحقیقی تاثیر مصرف ویتامینC را بر آنزیم‌های ضد اکسایشی(سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز)و مالون‌دی‌آلدهید در زنان ورزشکار بعد از یک دو ٢١ کیلومتری نشان داد که مصرف ویتامین C موجب کاهش معنی‌دار مالون دی آلدهید شد؛ اما افزایش آنزیم‌های ضد اکسایشی معنی‌دار نبود(٣١). به علاوه، گلادی بلوک[3] (٢٠٠٨) نشان داد که مکمل‌سازی ویتامین C بر روی مردان غیرورزشکار موجب کاهش مالون دی آلدئید و کراتین کیناز گردید(٣٢).

نتیجه‌گیری نهایی

یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد یک جلسه فعالیت ورزشی وامانده‌ساز، در حد معنی‌داری سبب افزایش تخریب DNA شده است. به علاوه ، مکمل‌دهی کوتاه‌مدت گیاه بولاغ اوتی، باعث می‌شود که افزایش تخریب DNA در حالت پایه و پس از فعالیت ورزشی وامانده‌ساز در گروه مکمل‌سازی نسبت به گروه کنترل کمتر باشد. با وجود این با توجه به مطالعات اندک در این حوزه، برای روشن شدن آثار مکمل‌دهی کوتاه مدت بولاغ اوتی بر شاخص‌های مربوط به آسیب اکسایشی تحقیقات بیشتری ضرورت دارد. هم چنین، با توجه به افت پاسخ فزاینده ی شاخص تخریب DNA پس از یک جلسه فعالیت ورزشی وامانده‌ساز، می‌توان با در نظر گرفتن ملاحظات و نظارت‌های پزشکی به مربیان و مردان غیرورزشکار توصیه کرد تا با مکمل‌دهی گیاه بولاغ اوتی (١٤ روزه، روزانه ٨٠ گرم به شکل خام) از بروز فشارهای اکسایشی احتمالی ناشی از انجام فعالیت‌های ورزشی سنگین پیشگیری نمود.

1- Khassaf

2- Subhadra
3- Gladys Block

منابع

1.Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. J of Biochem. 1973;134:707-16.
2.De Keulenaer GW, Chappell DC, Ishizaka N, Nerem RM, Alexander RW, Griendling KK. Oscillatory and steady laminar shear stress differentially affect human endothelial redox state role of a superoxide-producing NADH oxidase. Circulation research. 1998;82(10):1094-101.
3.Cooper C, Vollaard NB, Choueiri T, Wilson M. Exercise, free radicals and oxidative stress. Biochemical society transactions. 2002;30(2):280-4.
4.Enagelos O, Gerasimos S. he impact of physical activity on total antioxidant capacity and endothelial function. Sports and Exercise Cardiology. 2013;61(10):614-9.
5.Hamurcu Z, Saritas N, Baskol G. Effect of wrestling exercise on oxidative DNA damage, nitric oxide level and paraoxanase activity in adolescent boys. Pediatr Exerc Sci. 2010;22(1):60-8.
6.Higashida K, Kim S, Highuchi M. Normal adaptation to exercise despite protection against oxidative stress. Am J Physiol Endo Metab. 2011;301:779-84.
7.Kumar CT, Reddy VK, Prasad M, Thyagaraju K, Reddanna P. Dietary supplementation of vitamin E protects heart tissue from exercise-induced oxidant stress. Molecular and cellular biochemistry. 1992;111(1-2):109-15.
8.Jackson M, Khassaf M, Vasilaki A, McArdle F, McArdle A. Vitamin E and the oxidative stress of exercise. Annals of the New York Academy of Sciences. 2004;1031(1):158-68.
9.Dillard C, Litov R, Savin W, Tappel A. effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. J Appl Physiol. 1978;45(6):927-32.
10.Sjödin B, Westing YH, Apple FS. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. Sports Medicine. 1990;10(4):236-54.
11.Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. Experimental Biology and Medicine. 1999;222(3):283-92.
12.Dornelles C, Schneide A, oliveire A. Oxygen free radical exercise: mechanisms of synthesis and adaption training. Rev med esporte bras. 2004;10(4):524-31.
13.Tirosh O, Reznik A. Chemical bases and biology relevance of protein oxidation. and anti oxidant stress. Journal of Sport Science and Medicine. 2000;59(1):89-114.
14.Kelsey F, Richard J. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. Dynamic medicine. 2009;8(1):1-25.
15.Sumida S, Doi T, Sakurai M, Yoshioka Y, Okamura K. Effect of a single bout of exercise and β-carotene supplementation on the urinary excretion of 8-hydroxy-deoxyguanosine in humans. Free radical research. 1997;27(6):607-18.
16.Dabidi RV, Choobineh S, Faramarzi M. Effect of tourine supplementation on lipid peroxidation in wistar rats after exhaustive exercise. Olympics. 2007. 14(4): 99-109
17.Hamedinia M, Nikbakht H, Rasaei M. Effect of exhaustive exercise on oxidative stress markers and CK in athlete students. Olympics. 2003. 10(3): 39-49
18.Casanova N, Ariagno J, Lopez M. In vivo antigenotoxic activity of watercress juice against induced DNA damage. J Appl Toxicol. 2012;33(9):880-5.
19.Shahrokhi N, Khaksari HM, Shabani M, Heidari MR. The effect of seeding nasturtium officinale water extract on plasma lipids and glucose level in diabetic Rats. Journal of Rafsanjan University of Medical sciences. 2008. 6(4): 245-254
20.Gill C, Halder S, Boyd L, Bennett R. Watercress supplementation in diet reduces lymphocyte DNA damage and alters blood antioxidant status in healthy adults. Am J Clin Nutr. 2007;85(2):504-10.
21.Mark C, Ciara M, George B. Acute and chronic watercress supplementation attenuates exercise-induced peripheral mononuclear cell DNA damage and lipid peroxidation. British Journal of Nutrition. 2012;54(2):1-9.
22.Rahimi R. Creatine supplementation decreases oxidative DNA damage and lipid peroxidation induced by a single bout of resistance exercise. J of Str Condi Res. 2011;25(12):3448-55.
23.Ahmed H, Hazem H. Influence of hypoxic seimming exercise on oxidative stress and cell damage. Int J of Phar & Bio Sci. 2011;5(2):39-44.
24.Avellini L, Chiaradia E, Gaiti A. Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (Equus caballus). Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 1999;123(2):147-54.
25.Zaidi S, Banu N. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. Clinica Chimica Acta. 2004;340:229-33.
26.Robert P, John R. The role of vitamin E and oxidative stress in diabetes complications . Mechanisms of aging and development. 2010;131:276-86.
27.McAnulty S, McAnulty L, Nieman D, Morrow J, Shooter L, Holmes S. Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise. J Nutr Biochem. 2005;16(9):530-7.
28.Lee E, Lee M, Hong S, Chung C, Hong S. Blockade of Oxidative Stress by Vitamin C Ameliorates Albuminuria and Renal Sclerosis in Experimental Diabetic Rats. Yonsei Med J. 2007;31(5):847-55.
29.Coşkun S, Gönül B, Güzel N, Balabanlí B. The effects of vitamin C supplementation on oxidative stress and antioxidant content in the brains of chronically exercised rats. Mol Cell Biochem. 2005;208(1-2):135-8.
30.Khassaf M, McArdle A, Esanu C. Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. J Physiol. 2003;549(2):645-52.
31.Subhadra K, Chengappa R. Effect of Antioxidant Supplementation on Hematological Parameters, Oxidative Stress and Performance of Indian Athletes. J Hum Ecol. 2008;24(3):209-13.
32.Block G, Jensen C, Holland N. The effect of vitamins C and E on biomarkers of oxidative stress depends on baseline level. Free Radical Biology & Medicine. 2008; 45:377-84.

Effect of short-term watercress supplementation on level of DNA damage after exhaustive

Amir Sasan R [1], Jafari A[1], Narimanpour Salemi S[*2], Hadi H[3]

1, 2- Tabriz University
3-Police University
*Correspondence: MS, Faculty of physical education and sport sciences, Tabriz University, Iran

Received: 2015/10/23 **Revised:** 2015/12/05 **Accepted:** 2016/02/16

∗Correspondence:
Tabriz University

Email:
amir.hadi1@gmail.com

Abstract

Introduction: This study was performed to determine Effect of short-term watercress supplementation on level of DNA damage after exhaustive exercise in non-athlete males.

Methods: Eighteen male non-athletes (range of age: 20-22 years, weight: 65-75 kg and height: 175-185 cm and VO2max: 38-42 ml/kg/min) in a randomized design were assigned in two supplement(n=8) (85gr/day raw watercress with 250ml water for 14 days)and placebo groups(n=10). After supplementation, all participants were participated in Bruce exhaustive exercise. The blood samples were taken in three phases (before and after the supplementation and after the exercise). The data (Mean ± SD) were analyzed by repeated measure ANOVA, Bunferoni and independent t-test (P≤0.05).

Results: The results showed that a 14-day watercress supplementation significantly reduces basal 8-oxodG index in plasma (P›0.05). Moreover, this supplementation could reduce post- exercise 8-oxodG increase.

Conclusions: Results of the study indicate that watercress supplementation can reduce DNA damage due to severe physical exercise. However, since few studies have been conducted in this area, more research is needed.

Key Words: Short-term Watercress supplementation, DNA damage, exhaustive exercise.