

تأثیر تمرین تناوبی و سن بر میزان لاکتات (La) و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) خون موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

نویسندگان:

حمید محبی^۱، فرهاد رحمانی نیا^۱، الله‌یار عرب مومنی^{۲*}، احمد ریاسی^۳، محمد مرندی^۴

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
 ۲- گروه تربیت‌بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خمینی‌شهر، خمینی‌شهر، اصفهان، ایران
 ۳- گروه فیزیولوژی حیوانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
 ۴- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 12, No. 4, Winter 2015

چکیده:

مقدمه: فعالیت بدنی و سن از عوامل اثرگذار بر میزان لاکتات و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز هستند. به نظر می‌رسد فعالیت بدنی می‌تواند تغییرات مورفولوژی و متابولیک که همراه با افزایش سن، باعث کاهش توانایی و تضعیف عملکرد ورزشی می‌شوند را تعدیل کند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی آثار تمرین تناوبی بر میزان لاکتات و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز موش‌های پیر و جوان بود.

روش کار: تعداد ۴۰ سر موش در دو دسته سنی پیر (۲۰ سر با سن ۲۷ ماه و وزن 389 ± 31 گرم) و جوان (۲۰ سر با سن ۳ ماه و وزن 224 ± 13 گرم) به‌طور تصادفی به دو گروه تجربی ($n = 10$) و شاهد ($n = 10$) در هر دسته تقسیم شدند. پروتکل تمرینی شامل ۴ دقیقه دویدن و ۲ دقیقه استراحت فعال در ۱۰ وهله تمرینی به مدت ۶۰ دقیقه با ۶ جلسه در هر هفته و به مدت ۸ هفته به‌صورت فزاینده روی نوار گردان اجرا شد. موش‌ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی با ترکیبی از کتامین و زایلازین بی‌هوش و خون‌گیری از قلب آنان انجام شد. مقادیر لاکتات (La) و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) به روش آنزیماتیک اندازه گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی انجام شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج تحقیق، تفاوت معناداری در میزان لاکتات خون چهار گروه مشاهده نشد، ولی در میزان فعالیت آنزیم LDH، تفاوت معناداری بین گروه جوان تجربی و جوان شاهد دیده شد ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان‌دهنده افزایش پاک‌سازی لاکتات بعد از تمرین تناوبی است. به‌علاوه به نظر می‌رسد تأثیر تمرین روی پاک‌سازی لاکتات در جوانی و سالمندی مشابه باشد. پایش لاکتات جریان خون برای پراسازی مجدد گلیکوژن عضلات و تنظیم pH درون‌سلولی (PHi) یک مزیت مهم است.

واژگان کلیدی: لاکتات دهیدروژناز (LDH)، تمرین تناوبی، لاکتات (La)

Par J Med Sci 2015;12(4):37-45

مقدمه:

افزایش یابد [۳]. اوج غلظت لاکتات خون حدود ۵ دقیقه پس از قطع ورزش شدید رخ می‌دهد [۴،۲]. لاکتات دهیدروژناز آنزیمی است که واکنش دوطرفه پیرووات به لاکتات را کاتالیز می‌کند. این آنزیم به مقدار فراوان در سیتوپلاسم تمام بافت‌های بدن با غلظت‌های متفاوت یافت

لاکتات سوپسترای پویا است که دارای پتانسیل بسیار زیادی به‌عنوان یک منبع انرژی بوده و در بازسازی آدنوزین تری فسفات (ATP) مؤثر است [۱]. میزان طبیعی لاکتات خون ۰/۵ تا ۲/۲ میلی مول در هر لیتر است [۲]. تصور می‌شود که در خستگی کامل این مقدار به محدوده ۲۰ تا ۲۵ میلی مول در لیتر

* نویسنده مسئول، نشانی: دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خمینی‌شهر، خمینی‌شهر، اصفهان، ایران
 تلفن تماس: ۰۹۱۳۳۶۸۸۵۷۲ پست الکترونیک: arabmomoni@iaukhsh.ac.ir

پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۶

اصلاح: ۹۳/۱۰/۱

دریافت: ۹۳/۵/۲۲

می‌شود و معمولاً مقدار آن ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از تحریک به تدریج افزایش می‌یابد [۵]. علت ترشح این آنزیم، تغییرات ساختاری به وجود آمده در بافت عضلانی به دنبال فعالیت شدید است [۶].

در حین ورزش، لاکتات از عضلات در حال انقباض خارج و توسط قلب و عضلات اکسیداتیو مختلف مصرف می‌شود. انتشار منوکربوکسیلات مانند لاکتات و پیروات در سراسر غشاء پلاسمایی سلول‌های پستانداران توسط پروتئین‌های حامل غشاء، معروف به انتقال‌دهنده‌های منوکربوکسیلات، تسهیل می‌شود [۷]. با افزایش سن، تغییرات مورفولوژیک و متابولیک در عضله اسکلتی به شکل کاهش سطح عرضی عضله رخ می‌دهد که کاهش توانایی و تضعیف عملکرد ورزشی را به همراه دارد [۸]. تارهای عضلانی با یک کاهش در تعداد تارهای نوع I و II، همراه با آتروفی انتخابی از نوع II روبه‌رو می‌شوند [۸، ۹]. این پدیده که از آن به‌عنوان سارکوپنی (Sarcopenia) یاد می‌شود، ناشی از کاهش در اندازه تار عضلانی، تعداد تار و یا ترکیبی از هر دو است [۱۰]. همچنین بیان شده است که با افزایش سن، تجمع لاکتات کاهش و در نتیجه مقاومت در برابر خستگی در عضلات اسکلتی سالمندان افزایش می‌یابد [۱۱].

بالین‌وجود، بعضی از پژوهش‌ها نشان می‌دهد که در سالمندان در حین ورزش و بعد از آن، پاک‌سازی لاکتات در مقایسه با افراد جوان‌تر کاهش می‌یابد [۱۲]. کوهون و همکاران گزارش کردند که میزان لاکتات ورزشکاران دو و میدانی مرد و زن (میانگین سن به ترتیب ۴۰-۸۸ و ۳۵-۸۷)، بعد از مسابقه کاهش یافته است [۱۳]. به نظر می‌رسد کاهش لاکتات خون سالمندان به عواملی از جمله میزان توده عضلانی و حجم پلازما که همراه با سن کاهش می‌یابند، مربوط باشد [۱۴].

به‌علاوه، به نظر می‌رسد سالمندی با حداقل بهره‌وری از آنزیم‌های گلیکولیتیک نیز همراه باشد [۱۴]. پستورسا و همکاران عنوان کردند که به‌موازات افزایش سن فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و هگزوکیناز، سیرتات و سیرتات سنتاز در عضله کاهش می‌یابند [۱۵]. باوجودی که نتایج مطالعه بنلی پیرو و همکاران در سال ۲۰۰۷ روی شناگران مسن، هیچ اثر قابل‌توجهی از اثر سن در محدوده ۴۰-۷۹ سال زنان در لاکتات خون بعد از مسابقه نشان نداد، اما کاهش معناداری در لاکتات خون مردان با افزایش سن مشاهده شد [۱۶]. اگر چه این شواهد تجربی باهم سازگار نیستند، ولی نشان می‌دهند که فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک تحت تأثیر سن قرار می‌گیرند. از طرفی عنوان شده است که ورزش سنگین باعث تولید مقادیر زیاد اسیدلاکتیک در عضلات اسکلتی فعال شده و تعادل اسیدی-بازی بدن را به هم می‌زند که این امر خود باعث

کاهش توانایی در عملکرد ورزشی می‌شود [۱۷]. به‌علاوه، در شرایط اسیدیته بالا، تعدادی از آنزیم‌های حساس به pH از جمله فسوفروکتوکیناز، مهار شده که کاهش تولید آدنوزین تری فسفات را به دنبال دارد [۱۸]؛ بنابراین، پایش لاکتات در حین تمرینات ورزشی ضروری به نظر می‌رسد. از طرف دیگر، به دنبال انتشار لاکتات از عضله اسکلتی به داخل پلازما، لاکتات و یون هیدروژن، به‌ویژه از طریق انتقال‌دهنده‌های منوکربوکسیلات به داخل گلبول‌های قرمز منتقل و از این طریق در بدن حمل می‌شوند [۱۹]. مقداری از لاکتات موجود در پلازما را نیز تارهای اکسیداتیو جذب و با اکسیژن ترکیب می‌کنند و قسمتی از لاکتات باقی‌مانده هم در کبد جهت فرایند گلیکوتئوز استفاده می‌شود [۲۰] که در مجموع، این عوامل باعث برداشت و پاک‌سازی لاکتات خواهند شد. به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی که از شدت مناسب برخوردار باشند، از طریق افزایش بیان انتقال‌دهنده‌های منوکربوکسیلات، افزایش دانسیته میتوکندری و تسریع روند گلیکوتئوز، به پاک‌سازی لاکتات کمک نمایند [۲۱]. علی‌رغم اهمیت این موضوع، تحقیقاتی که به بررسی تأثیر فعالیت بدنی بر میزان لاکتات و فعالیت لاکتات دهیدروژناز به‌ویژه در سالمندی پرداخته باشند، اندک‌اند. با توجه به تأثیر مثبت تمرین بر آمادگی جسمانی و افزایش پاک‌سازی لاکتات به دنبال تمرین در سالمندان، انجام چنین مطالعاتی می‌تواند جهت ارائه راهکارهای عملی در برابر عوارض ناشی از سالمندی سودمند باشد. در تأیید این موضوع، ساری دوین و همکاران گزارش کردند که تمرین تناوبی میزان لاکتات خون موش را کاهش می‌دهد [۲۲]. همچنین کلارسون و همکاران [۲۳] گزارش کردند که مقادیر آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و فسوفروکتوکیناز بعد از انجام تمرین و مسابقه افزایش معناداری پیدا می‌کند. این مطالعات افزایش غلظت این آنزیم‌ها را با شدت، نوع و مدت تمرین مرتبط دانسته‌اند [۲۳]. کارن ولی جی آر و همکاران نیز افزایش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز و کاهش غلظت لاکتات عضله موش‌ها را بعد از تمرینات تناوبی گزارش کردند [۲۴].

به‌طورکلی از تحقیقات انجام‌شده چنین استنباط می‌شود که سن و فعالیت بدنی می‌توانند به‌عنوان دو عامل اثرگذار بر میزان لاکتات و لاکتات دهیدروژناز مطرح باشند، ولی فرایندهای اثرگذار مرتبط با سن و تعامل سالمندی و فعالیت بدنی هنوز به‌طور کامل شناخته‌نشده‌اند. به‌علاوه، نتایج این تحقیقات در یک راستا نبوده و هنوز در این خصوص تردید و ابهام وجود دارد. همچنین مطالعات محدودی اثر تمرینات تناوبی فزاینده را مورد بررسی قرار داده‌اند و اطلاعات کمی راجع به آثار تمرینات تناوبی بر پاک‌سازی لاکتات و ارتباط آن با سن وجود دارد. از

تمرینی، به صورت فزاینده از ۱۸ به ۳۰ متر در دقیقه افزایش یافت. برنامه تمرینی به مدت ۶۰ دقیقه، ۶ جلسه در هفته و به مدت ۸ هفته روی نوار گردان انجام شد. در هر جلسه تمرین، ۷ دقیقه گرم کردن به صورت دویدن و یا راه رفتن روی نوار گردان با سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه در ابتدا و ۵ دقیقه سرد کردن در پایان انجام شد. تمرین در هفته اول با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه شروع و به تدریج در دو هفته آخر، به سرعت ۳۰ متر بر دقیقه افزایش یافت. این اطلاعات بر اساس مطالعه مقدماتی روی ۴ سر موش به دست آمد. همچنین از مطالعه هاف اشتاد و همکاران به عنوان الگویی برای طراحی تمرین استفاده شد [۲۵]. تمامی متغیرهای تمرینی در دو هفته آخر ثابت نگه داشته شد تا سازگاری‌های انجام شده در زمان تشریح به حالت یکنواخت خود برسد [۲۴].

روش نمونه‌گیری:

موش‌ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، بعد از ناشتایی شبانه (۱۲ ساعت)، با ترکیبی از کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) بی‌هوش شدند. برای اندازه‌گیری لاکتات، ۳ سی‌سی خون با استفاده از سرنگ آغشته به هپارین به طور مستقیم از ناحیه بطن چپ قلب حیوان جمع‌آوری و بلافاصله در سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه برای جداسازی پلاسما از سلول‌های خون سانتریفوژ و به آزمایشگاه منتقل شد. همچنین مقدار ۳ سی‌سی خون دیگر نیز برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز از قلب حیوان گرفته شد. اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز در سرم خون انجام گرفت. برای تهیه سرم، پس از عمل خون‌گیری، خون داخل لوله آزمایش ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای معمولی قرار داده شد تا لخته شود. سپس خون‌ها در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه برای جداسازی سرم سانتریفوژ شده و سرم (مایع رویی) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای تعیین لاکتات دهیدروژناز نگهداری شد.

اندازه‌گیری لاکتات پلاسما و لاکتات دهیدروژناز سرم:

اندازه‌گیری لاکتات پلاسما و لاکتات دهیدروژناز سرم در آزمایشگاه به روش اسپکتروفتومتری با دستگاه اتوانالایزر شرکت هیتاچی ساخت کشور ژاپن انجام گرفت. روش اندازه‌گیری لاکتات به این صورت است که لاکتات موجود در نمونه در اثر آنزیم لاکتات اکسیداز به پیروات و آب‌اکسیژنه تبدیل می‌شود. آب‌اکسیژنه ایجاد شده در مجاورت پراکسیداز و ۴-آمینو آنتی پیرین و یک کروموان اختصاصی تبدیل به ماده بنفش‌رنگ می‌شود. افزایش جذب نوری که در طول موج ۵۴۰-۶۶۰ نانومتر خوانده می‌شود، متناسب با مقدار لاکتات است [۵].

این رو به منظور روشن شدن ابهامات موجود انجام تحقیقات جدید ضرورت دارد. در راستای توجه به این موارد، در مطالعه حاضر به بررسی تأثیر تمرینات تناوبی بر غلظت لاکتات و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز خون موش‌های صحرایی نر پیر و جوان نژاد ویستار پرداخته شده است.

روش کار:

این تحقیق از نوع تجربی به روش پس‌آزمون با گروه شاهد و استفاده از مدل حیوانی است. نمونه‌های حیوانی به طور تصادفی به گروه‌های تجربی و شاهد تقسیم شده و پروتکل تمرینی به مدت هشت هفته روی گروه‌های تجربی اجرا شد. در این مدت گروه‌های شاهد فعالیت ورزشی نداشتند، ولی در سایر موارد در شرایط یکسانی با گروه‌های تجربی نگهداری می‌شدند.

نمونه‌های حیوانی:

تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در دو دسته سنی پیر (۲۰ سر) با میانگین سن ۲۷ ماه و دسته سنی جوان (۲۰ سر) با میانگین سن ۳ ماه از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. موش‌ها ضمن انتقال به لانه حیوانات دانشکده داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در دمای 15 ± 22 ، رطوبت $4 \pm 55/6\%$ ، چرخه ۱۲:۱۲ ساعت روشنایی-تاریکی و در شرایط مناسب از نظر تغذیه و آب نگهداری شدند. بعد از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش‌های پیر با میانگین وزن 31 ± 289 گرم و موش‌های جوان با میانگین وزن 13 ± 224 گرم به طور تصادفی به دو گروه تجربی ($n = 10$) و شاهد ($n = 10$) تقسیم شدند. گروه شاهد در طول دوره تمرین در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف نگهداری شدند و برای کنترل سلامت آن‌ها وزن‌کشی هفتگی انجام می‌شد. ابتدا یک هفته آشنایی با دویدن روی نوار گردان به مدت ۱۰ دقیقه در هر جلسه، ۳ روز در هفته با سرعت ۸ متر در دقیقه که هر روز ۲ متر در دقیقه به سرعت اضافه می‌شد روی موش‌ها انجام شد. سپس، پروتکل تمرینی به مدت ۸ هفته روی گروه تجربی اجرا شد. در پایان هر دو گروه بی‌هوش شده و نمونه‌برداری انجام گرفت.

تمامی آزمایش‌ها مطابق دستورالعمل مربوط به آیین‌نامه حمایت از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. پروتکل اجرایی نیز مورد تأیید کمیته اخلاقی مرکز بالینی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان قرار گرفت.

پروتکل تمرینی:

پروتکل تمرینی شامل، ۴ دقیقه دویدن و ۲ دقیقه استراحت فعال در ۱۰ مرحله تمرینی بود. سرعت دویدن در طول دوره

بر اساس نتایج این مطالعه، در شروع و پس از ۸ هفته تمرین تناوبی، تغییر معناداری در وزن حیوانات مشاهده نشد و روند افزایش وزن در تمامی گروه‌ها طبیعی بود (شکل ۱). یافته‌های تحقیق در مورد میزان لاکتات و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز خون در جدول ۱ گزارش شده است. میانگین میزان لاکتات خون در گروه پیر تجربی و گروه پیر شاهد به ترتیب برابر با ۲/۸ و ۲/۴ میلی مول در لیتر و در گروه جوان تجربی و گروه جوان شاهد به ترتیب برابر با ۲/۱۶ و ۱/۹۸ میلی مول در لیتر بود. بر اساس نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه تفاوت معناداری در میزان لاکتات خون بین گروه‌ها مشاهده نشد ($p=0/115$) (شکل ۲). همچنین میانگین مقدار آنزیم لاکتات دهیدروژناز در گروه پیر تجربی و گروه پیر شاهد به ترتیب برابر با ۷۷۷ و ۷۲۴ واحد بین‌المللی بود که این تفاوت معنادار نبود ($p=0/32$)، ولی تفاوت بین فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز گروه جوان تجربی (۷۵۳ واحد بین‌المللی) و جوان شاهد (۵۸۰ واحد بین‌المللی) معنادار بود ($p=0/018$ و $p<0/05$) (شکل ۳).

همچنین برای اندازه‌گیری فعالیت لاکتات دهیدروژناز از روش استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان (DGKC) استفاده شد. در این روش فعالیت آنزیم با توجه به میزان تغییر غلظت NADH تعیین می‌شود [۵].

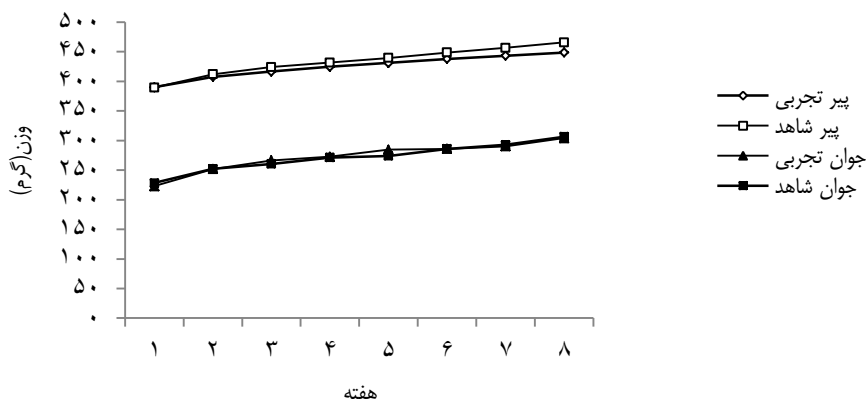
$$\text{Lactate} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{H}^+ + \text{Pyruvate} + \text{NADH}$$

آنزیم لاکتات دهیدروژناز با فعالیت NADH اکسید می‌شود. مقدار کاهش NAD به NADH در این فرآیند نسبت مستقیم دارد که به روش فتومتری قابل اندازه‌گیری است.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از تحقیق به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. به منظور حصول اطمینان از نرمال بودن توزیع نمونه‌ها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف و از آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع تمام متغیرهای مطالعه، از آزمون‌های آماری پارامتریک برای تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش استفاده شد. کلبه تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS 16 در سطح معناداری $P < 0/05$ انجام شد.

نتایج:



شکل ۱: تغییر وزن موش‌ها در طول ۸ هفته تمرین تناوبی

جدول ۱: میانگین میزان لاکتات و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز خون (میانگین \pm انحراف معیار)

پیر تجربی	پیر شاهد	جوان تجربی	جوان شاهد
۲/۸ \pm ۰/۱۸۶۲	۲/۴ \pm ۰/۶۷۲	۲/۱۶ \pm ۰/۶۸۲	۱/۹۸ \pm ۰/۳۲
۷۷۷ \pm ۷۰/۳	۷۲۴ \pm ۶۱/۵	۷۵۳ \pm ۶۶*	۵۸۰ \pm ۸۹/۷

* تفاوت معنادار نسبت به گروه شاهد ($P < 0/05$)

یافته‌های مهم مطالعه حاضر، وجود تفاوت در میانگین‌های چهار گروه در هر دو متغیر لاکتات و آنزیم لاکتات دهیدروژناز و

بحث:

و همکاران منجر به پاک‌سازی لاکتات شده است. همچنین ماکالوسو و دی وی تو و کورهونن و همکاران کاهش میزان لاکتات خون در سالمندی را گزارش کردند [۸،۱۳]. این محققین عنوان نمودند که با افزایش سن، سطح عرضی عضلات اسکلتی، تارهای عضلانی و حجم پلازما کاهش می‌یابد و این مسئله‌ای است که تولید کمتر لاکتات را به دنبال دارد.

با این حال، سیلس و همکاران بیان کردند در سالمندی، بعد از تمرینات با شدت یکسان، لاکتات خون یا کاهش می‌یابد و یا تغییر نمی‌کند [۲۹]. آن‌ها همچنین گزارش کردند سازگاری در پاسخ به ورزش طولانی، در سالمندی با دوران جوانی مشابه است [۲۹]. همچنین ریبرن و مکین نون تأثیر سن روی غلظت لاکتات خون، زمان اوج لاکتات و نیمه‌عمر آن در شناگران ماهر (سن ۲۵ تا ۵۶ سال) در زمان بازگشت به حالت اولیه را بررسی کردند [۳۰]. این محققین دریافتند که شناگران سرعتی سالمند قادر به تولید و پاک‌سازی اسیدلاکتیک به همان میزان شناگران جوان هستند. در مطالعه حاضر، اگر چه، تفاوت بین میانگین مقدار لاکتات خون گروه پیر و جوان معنادار نبود ($P=0/115$)، اما میانگین آن در دسته موش‌های پیر بالاتر بود. این نتایج با نتایج مطالعات ذکر شده مغایرت دارد. در مطالعه حاضر، حیوانات پیر وزن بیشتری نسبت به حیوانات جوان داشته‌اند که شاید دلیل آن را بتوان به وزن بالاتر موش‌های پیر نسبت داد؛ چون داشتن توده عضلانی بیشتر، منجر به تولید لاکتات بیشتری می‌شود [۳۱]. یکی دیگر از دلایل کاهش میزان لاکتات به دنبال تمرین را می‌توان به رقابت لاکتات با گلوکز به‌عنوان منبع سوخت کربوهیدرات در عضلات اسکلتی نسبت داد؛ بنابراین با مصرف لاکتات، ضمن کاهش این متابولیت، مقدار کمی از گلوکز خون طی ورزش مورد استفاده قرار می‌گیرد [۶]. نتیجه آن‌که لاکتات نه‌تنها ترکیبی است که در قسمت‌های مختلف بدن در حین فعالیت‌های ورزشی تجمع می‌یابد، بلکه به‌عنوان یک میانجی مهم متابولیسم و رابط بین متابولیت انرژی در بافت‌های مختلف نیز مطرح است [۳۳،۳۲].

همچنین نتایج این مطالعه در مورد لاکتات دهیدروژناز نشان داد که اگر چه تفاوت در گروه پیر تجربی و پیر شاهد معنادار نبود ($P=0/32$)، ولی آنزیم لاکتات دهیدروژناز گروه جوان تجربی به‌طور معناداری بیش از گروه جوان شاهد بود ($P=0/018$)؛ بنابراین به نظر می‌رسد پروتکل تمرین تناوبی باعث افزایش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز می‌شود. در تأیید این یافته، کارن ولی جی آر و همکاران افزایش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز بعد از اجرای تمرین تناوبی در عضله موش‌ها صحرائی را گزارش کردند [۲۴]. در گزارش کلارکسون و

تفاوت معنادار در لاکتات دهیدروژناز، بین دو گروه جوان تجربی و شاهد ($P=0/018$) و $F=3/23$] و پیر تجربی و جوان شاهد ($P=0/008$) و $F=3/23$] به دنبال ۸ هفته تمرین تناوبی در موش‌های صحرائی بود. بر اساس شواهد، در حین تمرینات سنگین، تقاضای انرژی به‌سرعت افزایش می‌یابد که با افزایش در گلیکولیز و به دنبال آن تولید لاکتات -H⁺ همراه است. برای باقی ماندن سرعت گلیکولیز در حین ورزش، تولید لاکتات با آنزیم لاکتات دهیدروژناز کاتالیز می‌شود تا از تجمع پیروات جلوگیری کند و از آن مهم‌تر، باعث حفظ تداوم عرضه انتقال نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD⁺) برای ادامه گلیکولیز شود [۳]. همچنین مشخص شده است که تارهای عضلانی اکسیداتیو می‌توانند لاکتات را از جریان خون و یا از تارهای گلیکوتیک مجاور جذب کنند. در شرایط انقباض عضلانی، بیش‌تر از ۸۰ درصد لاکتات تولیدشده را اکسیداسیون پاک‌سازی می‌کند [۲۶] و بنابراین به نظر می‌رسد به دنبال تمرینات ورزشی، با مصرف لاکتات از میزان این متابولیت کاسته شود. نبود تفاوت در میزان لاکتات در گروه‌های تجربی و شاهد در پژوهش حاضر، احتمالاً به سازوکارهای عنوان شده مربوط است. احتمالاً، همراه با اجرای تمرین تناوبی پاک‌سازی لاکتات افزایش‌یافته و غلظت آن افزایش چندانی ندارد و به مقادیر استراحتی گروه شاهد نزدیک است.

در این راستا، ساری دوین و همکاران در مطالعه‌ای، میزان لاکتات خون موش‌های صحرائی را بعد از ۴ و ۱۲ هفته تمرین تناوبی هوازی بررسی کردند [۲۲]. نتایج مطالعه نشان داد که میزان لاکتات در گروهی که ۴ هفته تمرین داشتند ۲/۱۱ میلی مول در لیتر و در گروه دیگر ۱/۷۱ میلی مول در لیتر بود که به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه اول است. همچنین کارن ولی جی آر و همکاران بیان کردند بعد از اجرای تمرین تناوبی فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز افزایش و میزان لاکتات عضله موش‌ها کاهش می‌یابد [۲۴]؛ بنابراین، به نظر می‌رسد تمرین تناوبی منجر به کاهش لاکتات شده و مدت طولانی‌تر تمرین اثر بیشتری روی پاک‌سازی آن داشته باشد. دیاز-هررا و همکاران نیز نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین هوازی روی موش‌ها تارهای اکسیداتیو را افزایش و تارهای گلیکوتیک را کاهش می‌دهد [۲۷]. ضمن این‌که داسین و همکاران گزارش کردند تمرین همراه با مدت، زمان، تکرار و شدت مناسب منجر به افزایش ۵۰ تا ۱۰۰ درصدی میتوکندری بعد از ۶ هفته تمرین هوازی می‌شود [۲۸]. تمام این یافته‌ها افزایش پاک‌سازی لاکتات به دنبال تمرینات ورزشی را نشان می‌دهند. یافته‌های پژوهش حاضر نیز در تأیید یافته‌های دیاز-هررا و همکاران، داسین و همکاران، کارن ولی جی آر و همکاران و ساری دوین

قرار می‌دهد [۱۵]. آن‌ها فعالیت آنزیم‌های گلیکوتیک و فسفوریلاسیون اکسیداتیو را در عضلات، ۷۶ نفر از افراد کم‌تحرك (۳۲ مرد و ۴۴ زن) بین ۱۵ و ۹۱ سال مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که به موازات افزایش سن، کاهش فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و هگزوکیناز، کاهش فعالیت سیترات و سیترات سنتاز در عضله اتفاق می‌افتد [۱۵]؛ بنابراین در بیش‌تر مطالعات، سن یکی از عوامل مؤثر بر تغییرات متابولیسم لاکتات شناخته شده و کاهش لاکتات و افزایش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز بعد از فعالیت بدنی گزارش شده است. در مطالعه حاضر، عدم تفاوت معنادار در میزان کاهش لاکتات خون بین موش‌های پیر و جوان به دنبال تمرین تناوبی نشان می‌دهد که احتمالاً تأثیر تمرین روی تغییرات لاکتات در هر دو گروه سنی مشابه بوده است. همچنین افزایش لاکتات دهیدروژناز در هر دو گروه سنی، با وجود معنادار نبودن افزایش آن، این نتیجه‌گیری را تأیید می‌کند. به عبارتی دیگر، تأثیر تمرین روی این تغییرات مستقل از سن است؛ بنابراین به نظر می‌رسد که اگر چه همراه با افزایش سن تغییرات متابولیسمی ایجاد می‌شود، تضعیف عملکرد حرکتی و کاهش فعالیت آنزیمی را به همراه دارد، ولی تمرین ورزشی می‌تواند این آثار منفی را کاهش و یا تعدیل کند. در مجموع، نتایج مطالعه حاضر به همراه نتایج مطالعات ذکر شده تمایل به کاهش میزان لاکتات خون به دنبال فعالیت بدنی را نشان می‌دهند؛ بنابراین به نظر می‌رسد تمرین تناوبی احتمالاً با افزایش ظرفیت جذب یا انتقال لاکتات، اثر مطلوبی روی پاک‌سازی لاکتات داشته و افزایش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز عاملی است که می‌تواند روند این پاک‌سازی را تسریع کند.

نتیجه‌گیری:

به‌طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در هر دو گروه سنی پیر و جوان، لاکتات خون به دنبال تمرین تناوبی کاهش و آنزیم لاکتات دهیدروژناز افزایش می‌یابد. در واقع این موضوع به پراسازی مجدد گلیکوژن عضلات با افزایش اکسیداسیون از تبدیل لاکتات به گلوکز تا تشکیل گلیکوژن کمک می‌کند. همچنین افزایش توانایی دفع لاکتات سلول‌های عضلانی به داخل خون در نتیجه فعالیت‌های بدنی به‌خصوص در حین ورزش برای تنظیم pH درون‌سلولی (pHi) یک مزیت محسوب می‌شود.

تامپسون [۳۴] هم بیان شده است که با افزایش شدت تمرین و تبدیل فعالیت از مسیر هوازی به بی‌هوازی، بر میزان تجمع لاکتات اضافه شده و به دنبال آن تجمع آنزیم لاکتات دهیدروژناز نیز بیش‌تر می‌شود [۳۴]. بر اساس شواهد موجود به نظر می‌رسد که آنزیم لاکتات دهیدروژناز در اثر فعالیت‌های ورزشی قابلیت افزایش تولید داشته [۳۵]، به طوری که این آنزیم علاوه بر فعالیت در روند تولید انرژی و لاکتات، در ایجاد شرایط التهابی برای سلول‌های عضلانی نیز نقش مؤثری دارد [۳۶]. از این رو بعضی مطالعات، افزایش میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز در اثر فعالیت‌های بدنی را ناشی از آسیب غشاء فیبرهای عضلانی می‌دانند [۳۶]. در مطالعه حاضر افزایش آنزیم لاکتات دهیدروژناز به علت این که هشت هفته تمرین باعث سازگاری و نه آسیب عضلانی می‌شود، به آسیب عضله منجر نشده است. تأثیر سن و تمرین استقامتی بر فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در موش‌های جوان، میان‌سال و پیر توسط لوپا وی آ و همکاران مطالعه شده است [۳۷]. آن‌ها گزارش کردند که همراه با افزایش سن فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز کبد موش‌های جوان کاهش می‌یابد، ولی در فعالیت این آنزیم در موش‌های میان‌سال و پیر تغییری ایجاد نمی‌شود. همچنین تمرین استقامتی موجب تغییر معناداری در فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز عضلات نمی‌شود. در همین راستا، ماسودا شاینا و همکاران در مطالعه‌ای روی موش‌های مسن و جوان گزارش کردند که اگر چه همراه با افزایش سن تغییرات متابولیسمی اتفاق می‌افتد، ولی در فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز تفاوتی بین دو گروه وجود ندارد [۱۲]. همسو با این مطالعات حیوانی، کاکز ج در پژوهشی به بررسی تأثیر سن بر فعالیت آنزیم‌های هوازی و بی‌هوازی در عضلات اسکلتی انسان پرداخت [۱۰]. نتایج این مطالعه نشان داد که فعالیت تمام آنزیم‌ها (اندازه‌گیری شده در این مطالعه) در سالمندان در مقابل میان‌سالان هنگامی که نتایج بر اساس وزن عضلات بیان شود، کمتر است، اما هنگامی که فعالیت آنزیمی نسبت به محتوای پروتئینی بیان شود، فقط فعالیت لاکتات دهیدروژناز به‌طور معناداری در سالمندان در مقابل میان‌سالان پایین‌تر است. در نتیجه، کاهش در عملکرد عضلانی افراد مسن ممکن است به دلیل فعالیت پایین‌تر آنزیم‌های هوازی و بی‌هوازی و همچنین محتوای پروتئینی باشد [۱۰]. پستوريسا و همکاران نیز در مطالعه‌ای با هدف بررسی اثر سن بر فعالیت آنزیم‌ها و غلظت متابولیت‌ها در عضله اسکلتی مردان و زنان بی‌تحرك بیان کردند که سالمندی ظرفیت متابولیسم عضله اسکلتی به‌ویژه ظرفیت‌های گلیکولیتیک و تنفسی را تحت تأثیر

References:

1. Marcinek DJ, Kushmerick MJ, Conley KE. Lactic acidosis in vivo: testing the link between lactate generation and H₊ accumulation in ischemic mouse muscle. *J Appl Physiol* 2010; 108: 1479–1486.
2. Kowalchuk JM, Heigenhauser GJ, Lindinger MI, et al. Factors influencing hydrogen ion concentration in muscle after intense exercise. *J Appl Physiol* 1988; 65: 2080–2089.
3. Gladden LB. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol* 2004; 558: 30–5.
4. Menchado FB, Gobatto CA, Contartaze RV L, et al. Maximal lactate steady state in running rats. *JEP online* 2005; 8: 29 – 35.
5. Pesce A, McKay RH, Stolzenbach F, et al. The comparative enzymology of lactic dehydrogenases. I. Properties of the crystalline beef and chicken enzymes. *J Biol Chem* 1964; 239: 1753–1761.
6. Dubouchaud H, Butterfield GE, Wolfel EE, et al. Endurance training expression and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278: E571–E579.
7. Washington T, Dameon L, Brown G, et al. Monocarboxylate transporter expression at the onset of skeletal muscle regeneration, *Physiol Rep* 2013; 21: 1-10.
8. Monocarboxylate transporter expression at the onset of skeletal muscle regeneration, *Physiological Reports*. 2013; 1-10.
9. Macaluso A, De Vito G. Muscle strength power and adaptations to resistance training in older people. *Eur J Appl Physiol* 2004; 9: 450–472.
10. Taylor AH, Cable NT, Faulkner G, et al. Physical activity and older adults: a review of health benefits and the effectiveness of interventions. *J Sport Sci* 2004; 22: 703–725.
11. Kaczor JJ, Ziolkowski W, Antosiewicz J, et al. The effect of aging on anaerobic and aerobic enzyme activities in human skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006; 61: 339-44.
12. Hepple RT, Hagen JL, Krause DJ, et al. Skeletal muscle aging in F344BN F1-hybrid rats: II. Improved contractile economy in senescence helps compensate for reduced ATP-generating capacity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004; 59: 1111–1119.
13. Masuda S, Hayashi T, Egawa T, et al. Evidence for differential regulation of lactate metabolic properties in aged and unloaded rat skeletal muscle. *Experimental Gerontology* 2009; 280–288.
14. Korhonen MT, Suominen H, Mero A. Age and sex differences in blood Lactate response to sprint running in elite master athletes. *Can J Appl Physiol* 2005; 30: 647–665.
15. Vandervoort AA. Aging of the human neuromuscular system. *Muscle Nerve* 2002; 25: 17–25.
16. Pastorisa, Boschia F, Verria M, et al. The effects of aging on enzyme activities and metabolite concentrations in skeletal muscle from sedentary male and female subjects. *Exp Gerontol* 2000; 95–104.
17. Benelli P, Ditroilo M, Forte R, et al. Assessment of post-competition peak blood lactate in male and female master swimmers aged 40–79 years and its relationship with swimming performance. *European J Appl Physiol* 2007; 685–693.
18. Juel C, Klarskov C, Nielsen JJ, et al. Effect of high-intensity intermittent training on lactate and H₊ release from human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 286: E245–E25.
19. Rojas Vegas HK, Wahrmanm BV, Bloch W, et al. Bicarbonate reduces serum prolactin increase induced by exercise to exhaustion. *Med sci sports Exerc* 2006; 38: 675-780.
20. Bishop D, Edge J, Thomas C, et al. High-intensity exercise acutely decreases the membrane content of MCT1 and MCT4 and buffer capacity in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2007; 102: 616–621.
21. Kay B. Bicarbonate as an ergogenic aid? A physical, chemical, mechanistic view point. *Brazilian j Biomotricity* 2008; 16: 205-219.
22. Thomas C, Bishop DJ, Lambert K, et al. Effects of acute and chronic exercise on sarcolemmal MCT1 and MCT4 contents in human skeletal muscles: current status. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 1211-1222.
23. Sari DN, Endardjo S, Santoso D IS. Blood lactate level in wistar rats after four and twelve weeks intermittent aerobic training. *Med J Indones* 2013; 22: 141-5.
24. Clarkson P, Kearns A, Rouzier P, et al. Serum creatine kinase levels and renal function measures in exertional muscle damage. *Pediatrics Crit Care Med* 2006; 623-627.
25. Carnevali Jr, Eder R, Lira F, et al. Effects of high-intensity intermittent training on carnitine palmitoyl transferase activity in the gastrocnemius muscle of rats. *Brazilian J Med Biol Res* 2012; 45: 777-783.
26. Hafstad AD, Boardman ND, Lund J, et al. High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. *J Appl Physiol* 2011; 111: 1235–1241.
27. Kelley KM, Hamann JJ, Navarre C, et al. Lactate metabolism in resting and contracting canine skeletal muscle with elevated lactate concentration. *J Appl Physiol* 2002; 93: 865–72.
28. Díaz-Herrera P, Torres A, Morcuende JA, et al. Effect of endurance running on cardiac and skeletal muscle in rats. *Histol histopathol* 2001; 29- 36.
29. Daussin FN, Zoll J, Dufour SP, et al. Effect of interval versus continuous training on cardiorespiratory and mitochondrial function: relationship to aerobic performance improvement in sedentary subjects. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; R264-72.
30. Seals DR, Hurley BF, Schultz J, et al. Endurance training in older men and women II. Blood lactate response to submaximal exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 1984; 1030-3.
31. Reaburn PRJ, Mackinnon LT. Blood lactate responses in older swimmers during active and passive recovery following maximal sprint swimming. *Eur J Appl Physiol* 1990; 6: 246– 250.
32. Deschenes MR. Effects of aging on muscle fibre type and size. *Sports Med* 2004; 3: 809–824.
33. Cruz RS, de Aguiar RA, Turmes T, et al. Intracellular Shuttle: The Lactate Aerobic Metabolism. *Sci World J* 2012; 1-8.
34. Taku H, Masaki T. Regulation of the exercise-induced expression of the monocarboxylate transporters MCT1 and MCT4 in skeletal muscle. *J Phys Fitness Sports Med* 2013; 85-92.

35. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: What Role Do They Play in Physical Activity and Health? *American J Clinical Nutr* 2000; 72: 637-646.
36. Schantz PG. Plasticity of Human Skeletal Muscle with Special Reference to Effects of Physical Training on Enzyme Levels. *Acta Physiologica Scandinavica* 1998; 558: 1-62.
37. Spriet LL, Howlett RA, Heigenhauser GJF. An Enzymatic Approach to Lactate Production in Human Skeletal Muscle during Exercise. *Med Sci Sports Exercise* 2000; 32: 756-763.
38. Lupa VA, Podolin DA, Roth DA, et al. Influence of aging and endurance training on lactate dehydrogenase in liver and skeletal muscle. *Mech Ageing Dev* 1994; 75:191-204.

The effects of interval training and age on blood lactate (La) levels and lactate dehydrogenase (LDH) activity in male Wistar rats

Hamid Mohebbi ¹, Farhad Rahmani-Nia ², Allah yar Arabmomeni ^{3*}, Ahmad Riasi ⁴,
Mohammad Marandi ⁵

Received: 8/12/2014

Revised: 11/8/2014

Accepted: 12/22/2014

1. Dept. of sport physiology, Faculty of Physical Education, University of Guilan, Rasht, Iran
 2. Dept. of Physical education, Department of Human Science, Islamic Azad University, Khomeinishahr Branch, Khomeinishahr, Isfahan, Iran
 3. Dept. of animal physiology, Faculty of Agriculture, Industrial University of Isfahan, Isfahan, Iran
 4. Dept. of sport physiology, Faculty of Physical Education, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 12, No. 4, Winter 2015

Par J Med Sci 2015;12 (4):37-45

Abstract

Introduction:

Physical activity and age are among the factors affecting lactate levels and lactate dehydrogenase activity. Physical activity appears to be able to counterbalance the morphological and metabolic changes associated with aging that decrease physical ability and performance.

Objectives: The purpose of the present study was to assess the effects of interval training on blood lactate levels and lactate dehydrogenase activity in young and old rats.

Materials and Methods:

A total of 40 male rats were selected and then divided into two age groups -the old group (20 rats aged 27 months and weighing 389 ± 31 g) and the young group (20 rats aged 3 months and weighing 224 ± 13 g). Each group was itself randomly divided into an experimental group (n=10) and a control group (n=10). The training protocol involved 4 minutes of running on the treadmill with intervals of 2 minutes active resting in 10 training bouts of 60 minutes, for 6 sessions per week and for 8 weeks and gradually increasing in intensity. Twenty-four hours after the last training session, the rats were anesthetized with a mixture of ketamine and xylazine in order for their blood sample to be collected from their cardiac puncture. Their lactate levels and LDH activity were then measured by an enzymatic method. Data were analyzed using the one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test.

Results:

The results showed no significant differences in blood lactate levels between the four groups; however, LDH activity was significantly higher in the young experimental group than in the young control group ($p < 0/05$).

Conclusion:

The results indicate that lactate is increasingly cleared by interval training. It also appears that the effect of training on lactate clearance is similar in both young age and old age. Monitoring blood lactate levels benefits muscle glycogen replenishment and intracellular pH (pHi) regulation.

Keywords: Lactate dehydrogenase(LDH), interval training ,Lactate (La)

* Corresponding author, Email: arabmomeni@iaukhsh.ac.ir

* Corresponding author, Email: mahboob.6691@yahoo.com.