



Accepted Manuscript

Accepted Manuscript (Uncorrected Proof)

Title: Comparison of NRF2 gene polymorphism rs12594956 in elite and amateur karate-kas vs. non-athletes

Authors: M. R. Batavani^{1,*}, S. M. Marandi², N. Boroushak³, G. Kamran⁴

1. Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Center of Physical Education, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-83111, Iran (Corresponding Author)

2. Professor of Sports Physiology Department, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran

3. Assistant Professor, Department of Sports Biomechanics, Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran

4. Professor, Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan,

***Corresponding:** Mohammad Reza Batavani · Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Center of Physical Education, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-83111, Iran

batavani@iut.ac.ir

To appear in: Sport physiology

Receive Date: 15 April 2023

Revise Date: 22 July 2023

Accept Date: 05 August 2023

First Publish Date: 05 August 2023

This is a “Just Accepted” manuscript, which has been examined by the peer-review process and has been accepted for publication. A “Just Accepted” manuscript is published online shortly after its acceptance, which is prior to technical editing and formatting and author proofing. Journal of Sport physiology provides “Just Accepted” as an optional service which allows authors to make their results available to the research community as soon as possible after acceptance. After a manuscript has been technically edited and formatted, it will be removed from the “Just Accepted” Website and published as a published article. Please note that technical editing may introduce minor changes to the manuscript text and/or graphics which may affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Please cite this article as:

Batavani, M. R., Marandi, S. M., boroushak, N., ghaedi, K. Comparison of NRF2 gene polymorphism rs12594956 in elite and amateur karate-kas vs. non-athletes. Sport Physiology, 2023; (); -. doi: 10.22089/spj.2023.14703.2250

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

عنوان: مروری بر تاثیر انواع پروتکل تمرینی و استفاده از ابزارهای حمایتی بر مکانیک حرکات انتقالی در سالمندان دارای عارضه استئوآرتریت زانو

نویسندگان: محمد رضا باتوانی^۱، سید محمد مرندی^۲، ندا بروشک^۳، کامران قائدی^۴

۱. استادیار مرکز تربیت بدنی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶، ایران

۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۳. استادیار گروه بیومکانیک ورزشی، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران

۴. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران / گروه زیست فناوری سلولی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشگاه زیست فناوری

*نویسنده مسئول: دکتر محمدرضا باتوانی، استادیار مرکز تربیت بدنی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶، ایران

ایمیل: batavani@iut.ac.ir

نشریه: فیزیولوژی ورزشی

تاریخ دریافت: ۲۶ فروردین ۱۴۰۲

تاریخ بازنگری: ۳۱ تیر ۱۴۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴ مرداد ۱۴۰۲

تاریخ اولین انتشار: ۱۴ مرداد ۱۴۰۲

این نسخه «پذیرفته شده پیش از انتشار» مقاله است که پس از طی فرآیند داوری، برای چاپ، قابل پذیرش تشخیص داده شده است. این نسخه در مدت کوتاهی پس از اعلام پذیرش به صورت آنلاین و قبل از فرآیند ویراستاری منتشر می‌شود. نشریه فیزیولوژی ورزشی گزینه «پذیرفته شده پیش از انتشار» را به عنوان خدمتی به نویسندگان ارائه می‌دهد تا نتایج آنها در سریع‌ترین زمان ممکن پس از پذیرش برای جامعه علمی در دسترس باشد. پس از آنکه مقاله‌ای فرآیند آماده‌سازی و انتشار نهایی را طی می‌کند، از نسخه «پذیرفته شده پیش از انتشار» خارج و در یک شماره مشخص در وبسایت نشریه منتشر می‌شود. شایان ذکر است صفحه آرای و ویراستاری فنی باعث ایجاد تغییرات صوری در متن مقاله می‌شود که ممکن است بر محتوای آن تاثیر بگذارد و این امر از حیطة مسؤلیت دفتر نشریه خارج است.

لطفا این گونه استناد شود:

Batavani, M. R., Marandi, S. M., boroushak, N., ghaedi, K. Comparison of NRF2 gene polymorphism rs12594956 in elite and amateur karate-kas vs. non-athletes. *Sport Physiology*, 2023; (0): -. doi: 10.22089/spj.2023.14703.2250

Abstract

Objectives: The genetic status of athletes plays a significant role in their success. Considering the importance of NRF2 gene polymorphism in aerobic capacity as one of the success factors of athletes, the purpose of this research is to investigate the NRF2 gene polymorphism in elite karate athletes and compare it with amateur and non-athlete groups. **Materials and methods:** statistical samples included 258 people (three groups of elite karate practitioners, amateurs and non-athletes) with the same average age, height and weight. Blood samples were collected in tubes containing EDTA, after DNA and PCR extraction for Determining the type of polymorphisms after preparation of primers were electrophoresed on agarose gel using RFLP method and MfeI enzyme. To analyze the data, simple ANOVA, chi-square and logistic regression methods were used in SPSS version 21 software. The significance level was also determined as $p < 0.05$. **Findings:** The results showed that there was a significant intra-group difference in the distribution of A/C marker 12594956rs NRF2 gene genotypes in the groups of amateurs ($\chi^2=8.667$, $P=0.013$) and non-athletes ($\chi^2=6.494$), $P = 0.039$). While this distribution did not show a significant difference between the groups ($\chi^2=3.121$, $P=0.528$). Also, in elite athletes, compared to non-athletes, the frequency of NRF2: A/A genotype is higher than C/C NRF2: with a coefficient of 1.049, and the frequency of NRF2: A/C is higher than NRF2: C/C with a coefficient of 0.918. It was less. In the case of amateur athletes, the frequency of NRF2: A/A genotype compared to NRF2: C/C genotype with a factor of 1.701 times that of non-athletes and the frequency of NRF2: A/C genotype compared to NRF2: C/C with a factor of 1.312 times It was more in amateur athletes than non-athletes. **Conclusion:** The results of the present research show the increase of genotypes related to the lower function of the NRF2 gene for the aerobic energy supply system.

KeyWords: NRF2, karate, elite, amateur, polymorphism

چکیده

اهداف: وضعیت ژنتیکی ورزشکاران در موفقیت آن‌ها نقش بسزایی دارد. با توجه به اهمیت پلی مورفیسم ژن NRF2 در توان هوازی بعنوان یکی از عوامل موفقیت ورزشکاران، هدف از انجام این تحقیق بررسی پلی مورفیسم ژن NRF2 در کاراته کاران نخبه و مقایسه آن با گروه آماتور و غیر ورزشکار می‌باشد. مواد و روش‌ها: نمونه‌های آماری شامل ۸۶ نفر کاراته کار نخبه با میانگین سن (۲۶±۰/۹)، قد (۱۶۹±۷/۱) و وزن (۶۴/۳±۳/۱)، ۸۰ نفر کاراته کار آماتور با میانگین سن (۲۷±۰/۸)، قد (۱۷۱±۶/۵) و وزن (۶۶/۹±۲/۸) و ۸۶ نفر غیر ورزشکار با میانگین سن (۲۸±۱/۱)، قد (۱۷۱±۷/۳) و وزن (۶۷/۶±۴/۱) بودند. نمونه‌های خونی در تیوب‌های حاوی EDTA، گردآوری و پس از استخراج DNA و PCR برای تعیین نوع پلی مورفیسم‌ها پس از تهیه پرایمر با استفاده از روش RFLP و آنزیم *MfeI* بر روی ژل آگاروز الکتروفورز شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش‌های آمار آنوای ساده، کای اسکوئر و رگرسیون لجستیک در نرم افزار اس پی اس نسخه ۲۱ استفاده شد. سطح معنی داری نیز $p < 0/05$ تعیین شد. یافته‌ها: نتایج نشان داد اختلاف معنی دار درون گروهی در توزیع ژنوتیپ‌های A/C مارکر rs1۲۵۹۴۹۵۶ ژن NRF2 در گروه‌های آماتور ($\chi^2 = ۸/۶۶۷$ ، $P = 0/0۱۳$) و غیرورزشکاران وجود داشت ($P = ۶/۴۹۴ = \chi^2$ ، $P = 0/0۳۹$). در حالی که این توزیع بین گروه‌ها تفاوت معنی داری را نشان نداد ($\chi^2 = ۳/۱۲۱$ ، $P = 0/۵۲۸$). همچنین در ورزشکاران نخبه نسبت به افراد غیر ورزشکار فراوانی ژنوتیپ NRF2: A/A نسبت به ژنوتیپ NRF2: C/C با ضریب ۱/۰۴۹ برابر بیشتر و فراوانی NRF2: A/C نسبت به NRF2: C/C با ضریب ۰/۹۱۸ برابر کمتر بود. در مورد ورزشکاران آماتور نیز فراوانی ژنوتیپ NRF2: A/A نسبت به ژنوتیپ NRF2: C/C با ضریب ۱/۷۰۱ برابر افراد غیر ورزشکار و فراوانی ژنوتیپ NRF2: A/C نسبت به NRF2: C/C با ضریب ۱/۳۱۲ برابر در ورزشکاران آماتور نسبت به افراد غیر ورزشکار بیشتر بود. نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده فزونی ژنوتیپ‌های مرتبط با عملکرد پایین‌تر ژن NRF2 جهت سیستم تامین انرژی هوازی می‌باشد.

کلید واژه‌ها: NRF2، کاراته، نخبه، آماتور، پلی مورفیس

مقدمه

عملکرد در ورزش و فعالیت‌های بدنی مربوط به آمادگی بدنی، نتیجه‌ی عواملی است که به صورت متقابل عمل نموده و می‌تواند به طور وسیعی تحت مقوله‌های محیطی و ژنتیکی دسته‌بندی شود. اخیراً توسعه تکنولوژی، شناسایی سریع ژنوتیپ‌ها و توالی سریع DNA، امکان شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی منحصر به فردی را که در اجرای ورزشی سهم بسزایی ایفا می‌کنند، میسر نموده است (۱ و ۲). جای تردید وجود ندارد که عوامل محیطی از قبیل تمرین و تغذیه به منظور پیشرفت یک ورزشکار نخبه لازم و ضروری باشد، با این وجود این عوامل به تنهایی کافی به نظر نمی‌رسند و لذا جستجو برای بررسی اختلافات ژنتیکی که علتی برای موفقیت در انواع معینی از ورزش‌ها می‌باشند نیز، به یک امر چالش برانگیز تبدیل شده است (۳). به نظر می‌رسد قرار گرفتن در زمره قهرمانان ورزشی موضوع بسیار پیچیده‌ای است که ممکن است از مجموعه‌ای از تفاوت‌های ژنتیکی هم متأثر شده باشد (۴). شواهد نشان می‌دهد که نشانگرهای ژنتیکی ممکن است تا اندازه‌ای یک تغییرپذیری مشخصه‌های عملکرد فیزیکی میان فردی را در پاسخ به تمرینات توضیح دهند (۵ و ۶). تفاوت‌های DNA (با فراوانی در جمعیت یک درصدی یا بیشتر) و تغییرات DNA نادر بطور کلی می‌تواند به عنوان نشانگرهای ژنتیکی مربوط به وضعیت ورزشکاران استقامتی یا قدرتی/توانی و یا هر دوی وضعیت ورزشکار استقامتی و قدرتی/ توانی دسته‌بندی شوند (۷). با توجه به توسعه تکنولوژی و علم ژنتیک، نقشه ژنوم انسانی مربوط به اجرای ورزشی و آمادگی جسمانی مرتبط با سلامت توسط رانکین^۱ و همکاران (۲۰۰۱) تهیه و هر ساله این نقشه با توجه به کشف ژن‌های جدید به روزرسانی می‌شود (۸). تا به حال بیش از ۲۰۰ چند شکلی تک نوکلئوتیدی وابسته به برخی مشخصه‌های مربوط به عملکرد و آمادگی در ادبیات مکتوب گزارش گردیده است و به صورت سالانه تا سال ۲۰۰۹ در ((نقشه‌ی ژن انسانی برای فنوتیپ‌های آمادگی مربوطه به عملکرد و سلامتی)) بوسیله بری^۲ و همکاران (۲۰۰۹) خلاصه شده است (۹). در حالت ایده آل یک پلی مورفیسم که تأثیری بر عملکرد ورزشی دارد، نه تنها باید بتواند ورزشکاران را از غیر ورزشکاران تشخیص دهد، بلکه باید ورزشکاران نخبه را نیز از ورزشکاران غیر نخبه تشخیص دهد (۱۰).

کاراته یک ورزش رقابتی رزمی است که با متغیرهای وضعیتی مشخص می‌شود که در طی شرایط رخ می‌دهد و واکنش‌های متنوعی همچون استفاده از تاکتیک‌های حمله و دفاع، حرکات پاها را نیاز دارد. بر اساس قوانین جهانی مبارزه کاراته کومیته کایی که اولین ضربه را به طرز صحیح، سریع و با قدرت کافی و کنترل شده به حریف وارد کند، امتیاز دریافت می‌کند و سایر ضربات مبارزات پس از آن مشمول امتیاز نخواهند شد. ملاک کسب امتیاز بیشتر کاتاها نیز، اجرای صحیح‌تر، سریع‌تر و قدرتمندتر تکنیک‌ها است که همه این روش‌های دینامیکی در بیشتر ثانیه‌های مسابقه با حفظ عملکرد صحیح انجام می‌شود. کاراته هنری است که بر پایه مبانی فیزیولوژیک بنا نهاده شده است و یکی از کامل‌ترین اشکال تمرین فیزیکی است (۱۲) و (۱۱). اجرای کاتا یا فرم در کاراته ۱۲۰-۶۰ ثانیه به طول می‌انجامد و سیستم انرژی مصرفی آن ۵۰ درصد هوازی، ۳۰ درصد بی‌هوازی آلاکتیک و ۲۰ درصد بی‌هوازی لاکتیکی گزارش شده است (۱۴ و ۱۳). مدت زمان رقابت کومیته نیز در مردان ۳

¹ - Rankinen etal

² -Bray etal

دقیقه و در زنان ۲ دقیقه می‌باشد. دوریا^۳ و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که در طول توالی کومپته، هر دو سیستم تامین انرژی هوازی و بی‌هوازی درگیر می‌باشد که با افزایش یا طولانی شدن مبارزات تا حدودی نقش سیستم هوازی افزایش می‌یابد (۱۵). در تحقیقی دیگر نیز بیان شده است که سیستم انرژی هوازی همچون سیستم تامین انرژی اسید لاکتیک مهم می‌باشد (۱۶). از لحاظ ژنتیکی نیز باتوانی و قانندی (۲۰۲۲)، نمره کلی ژن‌های وابسته به عملکرد بی‌هوازی (ACE, HIF1 α and IGF1) در کاراته کاران نخبه (۶۹/۸) را بالاتر از کاراته کاران آماتور (۶۴/۴) گزارش نمودند (۱۰). همچنین برایا و همکاران (۲۰۱۰)، ژنوتیپ DI ژن ACE را شایع‌ترین ژنوتیپ در ۱۳ کاراته کار اسپانیایی گزارش نمودند (۱۷). همانطور که نتایج تحقیقات پیشین نشان می‌دهد هر دو سیستم تامین انرژی هوازی و بی‌هوازی برای موفقیت کاراته کاهاه مهم می‌باشد. اگرچه ارتباط چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی وابسته به عملکرد بی‌هوازی در کاراته کاران نخبه مورد بررسی قرار گرفته است (۱۰) اما ارتباط چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی وابسته به عملکرد هوازی که به بیوژنز میتوکندیایی و عملکرد استقامتی مربوط است تا کنون مورد مطالعه قرار نگرفته است.

فاکتور رونویسی پروتئین متصل GA-، زیر واحد B (GABPB1) (مکان: ۱۵ (۱۵q21.2))؛ که همچنین به عنوان NRF2 نیز شناخته می‌شود یک تنظیم کننده رونویسی از ژن‌های فعال در بیان سیتوکروم اکسیداز و کنترل هسته ای عملکرد میتوکندری است. افزایش NRF2 بیانگر مؤلفه اصلی تنظیم کننده تحریک بیوژنز میتوکندری با ورزش است. اینون^۴ و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ AA در پلی مورفیسم rs12594956 A / C در ۸۹ ورزشکار استقامتی سطح جهانی اسپانیا در مقایسه با ۳۸ ورزشکار قدرتی (P = ۰,۰۱) و ۱۱۰ نفر کنترل به طور قابل توجهی بالاتر بود (۱۸). علاوه بر این، کارلوسکا و همکاران (۲۰۱۲) ارتباط بین پلی مورفیسم rs7181866 A / G و وضعیت ورزشکار استقامتی را تأیید کردند، یعنی نسبت ژنوتیپ AG و فراوانی آلل G در مقایسه با ۵۵ مرد اهل لهستان به طور قابل توجهی بالاتر بود (۱۹). همچنین Babić و همکاران (۲۰۲۳)، نشان دادند که چندین پلی مورفیسم ژنی از جمله GABPB1 ممکن است بر عملکرد تکواندوکاران نخبه تاثیر گذار باشد (۲۰). با این وجود چگونگی وضعیت ژنوتیپ A/C چند شکلی تک نوکلئوتیدی NRF2 که با بیوژنز میتوکندیایی و عملکرد هوازی مرتبط است در کاراته کاران مورد بررسی قرار نگرفته است.

از آنجایی که در حال حاضر نمای چند شکلی تک نوکلئوتیدی ژن NRF2، مؤثر در توان هوازی بعنوان یکی از عوامل موفقیت در عملکرد ورزشی در کاراته کاران بررسی نشده است. بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی چند شکلی تک نوکلئوتیدی ژن NRF2 در کاراته کاران نخبه و مقایسه آن با گروه آماتور و افراد غیر ورزشکار بود.

روش‌شناسی

مطالعه حاضر به طور مورد-شاهدی با مقایسه پلی مورفیسم ژن NRF2 بین سه گروه کاراته کاران نخبه، آماتور و غیر ورزشکاران انجام شد. جامعه هدف پژوهش حاضر کلیه کاراته کاران مرد و زن استان اصفهان بودند. کاراته کاران نخبه شامل ۸۶ نفر از قهرمانان حائز رتبه در سطح کشوری، بین‌المللی، آسیایی و جهانی و اردو نشینان تیم ملی بودند که طی درخواست کتبی از هیات کاراته استان اصفهان معرفی شده بودند. همچنین تعداد ۸۶ نفر از کاراته کاران بعنوان گروه آماتور (حداقل

³ Doria

⁴ Eynon

دارای کمربند سیاه و ۴ سال سابقه فعالیت و بدون سوابق موفقیت گروه نخبه) و تعداد ۸۶ نفر از افراد عادی جامعه (بدون سابقه تمرین منظم در ورزش) نیز به عنوان گروه غیر ورزشکار بطور هدفمند و در دسترس بگونه ای انتخاب شدند که در انتخاب آنها برخورداری از سن، قد و وزن مشابه گروه نخبه ملاک انتخاب در نظر گرفته شده بود (جدول ۱). برخورداری از سلامت جسمانی (بر اساس آزمون CBC) و عدم وجود بیماری های تاثیرگذار ژنتیکی، تکمیل فرم رضایتنامه کتبی، حداقل سن ۱۶ سال و عدم وجود رابطه فامیلی بین آزمودنی ها از جمله ملاک های ورود به مطالعه حاضر بود. لازم به ذکر است که تعداد ۶ نفر از قهرمانان گروه نخبه نیز در زمان مقرر موفق به حضور در نمونه گیری نشده و از دور بررسی خارج گردیدند.

جدول ۱. اطلاعات توصیفی آزمودنی های مورد بررسی در مطالعه

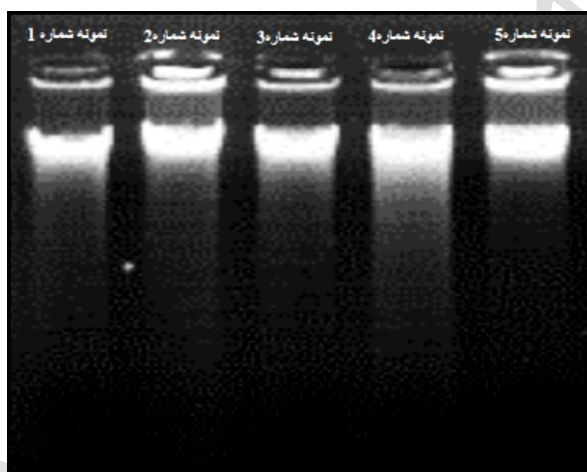
Table 1 Descriptive information of the subjects examined in the study

گروه Group	فراوانی Frequency	جنسیت (تعداد) Sex (No)		بخش مبارزاتی (درصد) Category (%)			میانگین \pm انحراف معیار وزن Weight (kg) Mean (کیلوگرم)	میانگین \pm انحراف معیار قد (سانتی Height (cm) Mean (متر)	میانگین \pm انحراف معیار سن (سال) Age (year) Mean
		مرد Male	زن Femal	کاتا Kata	کومیته Kumite	هر دو Both			
نخبه Elite	۸۶	۴۲	۴۴	۱۸	۶۰	۸	64.3 \pm 3.1	169 \pm 7.1	26 \pm 0.9
آماتور Amateur	۸۰	۴۰	۴۰	۱۵	۵۸	۷	66.9 \pm 2.8	171 \pm 6.5	27 \pm 0.8
غیرورزشکاران Non-athletes	۸۶	۴۲	۴۴	-	-	-	67.6 \pm 4.1	171 \pm 7.3	28 \pm 1.1

F=	F=	F=	نتایج آزمون‌های مقایسه‌ای آماری جهت مقادیر عددی سن، قد و وزن Comparisons of Means (weight, height & age):
2.649	0.794	1.97	
Sig=	Sig=	Sig=	
0.07	0.45	0.141	

استخراج DNA

با هماهنگی با آزمایشگاه از کلیه نمونه‌ها میزان ۵ میلی‌لیتر خون از سیاهرگ بازویی افراد گرفته شد و در تیوب‌های حاوی EDTA vacuum در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. DNA هر یک از افراد با استفاده از روش نمک‌اشباع و رسوب بوسیله الکل استخراج گردیدند. غلظت DNA استخراج شده بین ۱۳۰ تا ۴۴۰ ng/μl بود. نسبت جذب ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر نمونه‌ها بین ۱/۸ تا ۱/۹۶ بود (۲۰).



DNA ژنومی از

شکل ۱. نتایج مربوط به استخراج

سلول‌های خون محیطی انسان بر روی ژل آگارز ۱٪، تعداد ۵ نمونه (تیبیک) نشان داده شده است.

Figure 1: The results of genomic DNA extraction from human peripheral blood cells on 1% agarose gel, 5 samples (typical) are shown.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR):

سپس با استفاده از روش PCR^۵ توالی‌های مرتبط جهش در چند شکلی تک نوکلئوتیدی هدف مشخص گردید. توالی پرایمرها: 5'_TAAAATGAATAAAGGTGGGGGT_3 و Reverse: 5'_TAAGAGTGAAGGGTGGAGAA_3 مورد استفاده جهت تکثیر بخش حاوی SNP بودند که با سفارش به شرکت سیناژن آماده شد.

⁵ - Polymerase chain reaction

برنامه‌ی تعیین شده جهت PCR ژن NRF2 در جدول ۲ آورده شده است (۲۱):

جدول ۲. برنامه‌ی تعیین شده جهت PCR ژن NRF2

Table2. PCR Amplification of NRF2 Gene Program

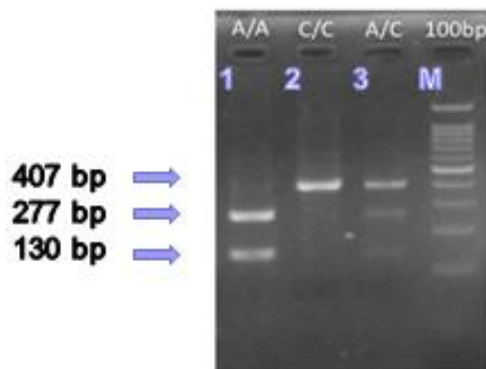
Primary Denaturation واسرشت مقدماتی	94 ° C	5 min	P 1
Denaturation واسرشت	94 ° C	30 sec	P 235 Cycles
Annealing اتصال	58 ° C	45 sec	
Extension طویل شدن	72 ° C	1 min	
Final Extension طویل شدن نهایی	72 ° C	7 min	P 3

تعیین ژنوتیپ A/C ژن NRF2:

در نهایت ژنوتیپ محصولات حاصل از PCR در آزمایشگاه ژنتیک با روش RFLP^۶ و الکتروفورز با آنزیم *MfeI* تیمار و بر روی ژل آگارز^۷ ۱٪ ران و با استفاده از دستگاه Gel doc (محصول شرکت یاس ژن کوثر) عکس برداری شد. در صورت وجود ژنوتیپ C/C تنها ۱ بانده ۴۰۷ نوکلئوتیدی، در صورت وجود ژنوتیپ A/A دو بانده ۲۷۷ و ۱۳۰ نوکلئوتیدی و در صورت وجود ژنوتیپ A/C ۳ بانده ۱۳۰، ۲۷۷ و ۴۰۷ نوکلئوتیدی در ژل مشاهده شدند (شکل ۲).

⁶ - Restriction fragment length polymorphisms

⁷ - Agarose



شکل ۲. بررسی تنوع ژنتیکی در ژن NRF2. چاهک ۱ نشان دهنده ژنوتیپ AA؛ چاهک ۲ ژنوتیپ CC؛ چاهک ۳ ژنوتیپ AC و M لدر (100 bp) هستند.

Figure 2. Investigation of genetic diversity in NRF2 gene. Lane 1: AA genotype, Lane 2: CC genotype, Lane 3 : AC and M genotypes are DNA 100 bp ladder

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های آماری از آمار توصیفی و استنباطی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده گردید. روش‌های آماری توصیفی شامل توزیع فراوانی، درصد فراوانی، میانگین و انحراف معیار و روش‌های آماری استنباطی آنوا جهت مقایسه میانگین سن، قد و وزن سه گروه، "Pearson Chi-Square" جهت بررسی توزیع یکنواخت ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مورد مطالعه و آزمون "Logistic Regression" برای بررسی ارتباط نخبه بودن با ژنوتیپ‌های مختلف استفاده شد. سطح معنی داری نیز در سطح $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

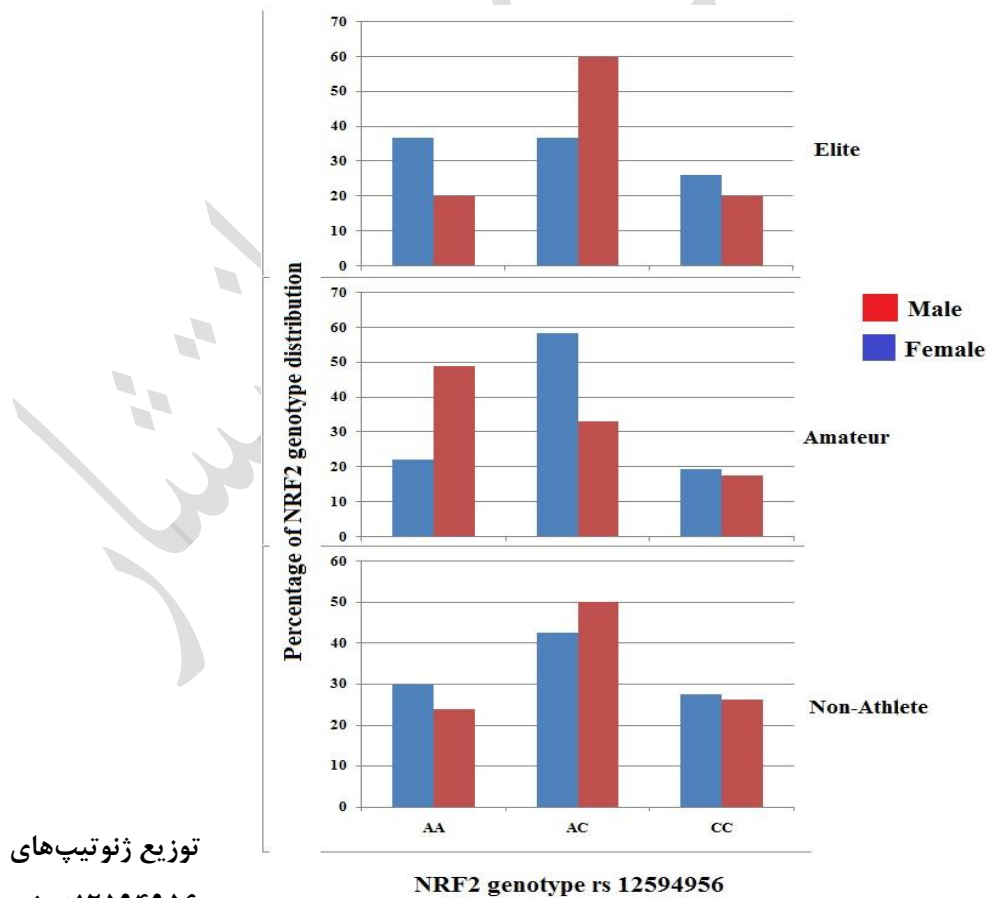
نتایج مطالعه حاضر نشان داد اختلاف معنی دار درون گروهی در توزیع ژنوتیپ‌های مختلف مارکر rs12594956 ژن NRF2 در گروه‌های آماتور ($P = 0.013$, $\chi^2 = 8.667$) و غیرورزشکاران وجود داشت ($P = 0.039$, $\chi^2 = 6.494$). بدین معنی که ژنوتیپ AC در گروه آماتور و غیر ورزشکار به ترتیب ۴۸/۷٪ و ۴۴/۴٪ بدست آمد که نسبت به نوع دیگر ژنوتیپ-ها بطور معنی داری بیشتر می‌باشد. در حالی که این توزیع بین گروه‌ها تفاوت معنی داری را نشان نداد ($P = 0.528$, $\chi^2 = 3.121$) (جدول ۳).

جدول ۳. چگونگی توزیع ژنوتیپ‌های مختلف مارکر rs12594956 در جمعیت‌های نخبه، آماتور و غیر ورزشکاران

Groups گروه‌ها	NRF2 A/C % genotypes			اختلاف درون گروهی Intragroup differences	اختلاف بین گروهی Intergroup differences
	AA	AC	CC		
Elite نخبه	28.2	48.7	23.07	($P = 0.116$, $\chi^2 = 4.308$)	($P = 0.528$, $\chi^2 = 3.121$)

Amateur آماتور	37.03	44.4	18.51	($P = 0.013$, $\chi^2 = 8.667$)
Non-Athlete غیرورزشکار	27	46	27	($P = 0.039$, $\chi^2 = 6.494$)

شکل ۳ چگونگی این توزیع ژنوتیپ A/C ژن NRF2 را در گروه های جنسیتی مرد و زن (و مجموع) در سه گروه نخبه، آماتور و غیر ورزشکاران نشان می دهد. نتایج الگوی متفاوت پلی مورفیسم های AA (فراوانی بیشتر) و CC (فراوانی کمتر) را در گروه آماتور نسبت به دو گروه دیگر نشان می دهد که البته غیرمعنی دار بود ($P > 0.05$).



توزیع ژنوتیپ های
ژن rs12594956

شکل ۳- چگونگی
مختلف مارکر

NRF2 A/C در جمعیت غیر ورزشکار، آماتور و نخبه در گروه های مرد و زن

جهت بررسی ارتباط نوع ژنوتیپ rs12594956 با وضعیت نخبگی در گروه‌های مورد بررسی از آزمون مولتی نومینال رگرسیون لوجستیک^۸ استفاده شد. همانطور که در جدول ۴ نشان داده شده است، در ورزشکاران نخبه نسبت به افراد غیر ورزشکار فراوانی ژنوتیپ NRF2: AA نسبت به ژنوتیپ NRF2: CC با ضریب ۱/۰۴۹ برابر بیشتر و فراوانی NRF2: AC نسبت به NRF2: CC با ضریب ۰/۹۱۸ برابر کمتر بود. در مورد ورزشکاران آماتور فراوانی ژنوتیپ NRF2: AA نسبت به ژنوتیپ NRF2: CC با ضریب ۱/۷۰۱ برابر افراد غیر ورزشکار و فراوانی ژنوتیپ NRF2: AC نسبت به NRF2: CC با ضریب ۱/۳۱۲ برابر در ورزشکاران آماتور نسبت به افراد غیر ورزشکار بیشتر بود (جدول ۴).

جدول ۴. نتایج آزمون مولتی نومینال رگرسیون لوجستیک مربوط به rs12594956

Table 4. The results of multinominal logistic regression test related to 12594956 rs

Condition ^a	Odd Ratio	95% Confidence Interval for Exp(B)		
		Lower Bound	Upper Bound	
Elite نخبه	NRF2 gene= AA	۱/۰۴۹	۰/۴۸۷	۲/۲۵۷
	NRF2 gene= AC	۰/۹۱۸	۰/۴۶۰	۱/۸۳۲
	NRF2 gene= CC	۱/۰۰۰	.	.
Amateur آماتور	NRF2 gene= AA	۱/۷۰۱	۰/۸۹۸	۳/۲۲۴
	NRF2 gene= AC	۱/۳۱۲	۰/۷۳۰	۲/۳۶۰
	NRF2 gene= CC	۱/۰۰۰	.	.

a. The reference category is: Non-Athlete.

بحث و نتیجه گیری

در بررسی چگونگی توزیع ژنوتیپ A/C ژن rs12594956 NRF2 در جمعیت غیر ورزشکار، آماتور و نخبه مشخص شد که فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مختلف به صورت یکنواخت توزیع شده‌اند و اختلاف معنی داری بین گروه‌ها از لحاظ پراکندگی

⁸ - Multinomial logistic regression

ژنوتیپ‌ها وجود ندارد ($P=0/528$). در هر سه گروه، ژنوتیپ‌های AC، AA و CC به ترتیب بیشترین شیوع را داشتند. بررسی رگرسیون نیز نشان داد فزونی ژنوتیپ AA در افراد نخبه نسبت به ژنوتیپ CC در افراد غیر ورزشکار و کمبود فراوانی ژنوتیپ AC در ورزشکاران نخبه نسبت به CC در افراد غیر ورزشکار وجود داشت. در مورد ورزشکاران آماتور نیز فزونی فراوانی ژنوتیپ‌های AA و AC نسبت به ژنوتیپ CC در افراد غیر ورزشکار وجود داشت.

ای نون و همکاران (۲۰۱۰) در یک مطالعه‌ی تعقیبی نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ AA در چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی A/C rs12594956 به طور معنی داری در ۸۹ ورزشکار استقامتی اسپانیایی رده‌ی جهانی در مقایسه با ۱۱۰ فرد گروه کنترل بالاتر بود (۲۱). همچنین ای نون و همکاران (۲۰۱۳ و ۲۰۰۹) در دو مطالعه دیگر بر روی ۱۵۵ ورزشکار و ۲۴۰ غیر ورزشکار توزیع چند شکلی تک نوکلئوتیدی rs12594956 A/C GABPB1 را آنالیز کردند. نتایج نشان داد تناوب‌های ژنوتیپ‌های AA rs12594956 GABPB1، بطور معنی داری در ورزشکاران استقامتی ($n = 74$) از غیر ورزشکاران ($n=81$) بیشتر بود (۲۲ و ۱۸). این نتایج همراستا با نتایج تحقیق حاضر نمی‌باشند. علاوه بر این، کارلوسکا و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند نسبت ژنوتیپ AC و فراوانی آلل C به طور معناداری در ۵۵ مرد پاروژن لهستانی در مقایسه با ۱۳۰ غیر ورزشکار بالاتر بوده و ارتباط بین چند شکلی تک نوکلئوتیدی rs7181866 A/C G و وضعیت ورزشکار استقامتی را تایید کردند (۱۹) همچنین گیلر^۹ و همکاران (۲۰۲۰) نیز به آنالیز ژن GABPB β بر روی ۱۶۴ رزمی کار پرداختند نتایج آن‌ها حاکی از ارتباط مستقیم این ژن با عملکرد ورزشی رزمی کاران بود. آلل‌های مینور G (rs7181866) و T (rs8031031) در ورزشکاران، به ویژه در ورزشکاران نخبه بالا گزارش شد (۲۳) که با نتایج تحقیق حاضر همسو می‌باشد.

یکی از دلایل ناهمسو بودن نتایج تحقیق حاضر با مطالعه ای نون و همکاران (۲۳ و ۱۸) احتمالاً می‌تواند متفاوت بود ماهیت رشته ورزشی و منطقه جغرافیایی باشد.

در گروه آماتور شیوع ژنوتیپ AC بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. این نتیجه احتمالاً نشان دهنده آن است که کاراته کاران آماتور از بیان پایین تری از ژن NRF2 مرتبط با عملکرد هوازی برخوردار می‌باشند. اما نتایج این تحقیق در گروه نخبه، تفاوت معناداری را در بین سه نوع ژنوتیپ نشان نداد. از طرفی نتایج بررسی رگرسیون، فزونی ژنوتیپ AA نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها را در افراد نخبه نسبت به افراد غیر ورزشکار نشان داد. این یافته احتمالاً نشان دهنده آن است که در افراد نخبه توان هوازی از اهمیت بالاتری برخوردار است و شاید یکی از دلایل معنادار نشدن توزیع ژنوتیپ‌ها در آزمون کای اسکوئر در این گروه تعداد کم آزمودنی‌ها باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود برای رسیدن به نتایج دقیق‌تر آزمودنی‌های بیشتری مورد بررسی قرار گیرند. همچنین پیشنهاد می‌شود ژن‌های دیگری نیز در کاراته در ارتباط با توان هوازی مورد مطالعه قرار گیرد.

پیام مقاله

نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده فزونی ژنوتیپ‌های مرتبط با عملکرد پایین تر ژن NRF2 جهت سیستم تامین انرژی هوازی می‌باشد. بنابراین با توجه به اهمیت فاکتورهای مختلف آمادگی بدنی و سیستم‌های تامین انرژی مختلف، نیاز است، ژنومیک کاراته به صورت پلی ژنتیک و نمره کلی ژنتیکی (TGS) مورد بررسی قرار گیرد.

⁹ - Guilherme

حامی مالی

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی با شماره ۴۱۱۴ در دانشگاه صنعتی اصفهان است

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه کاراته کاران نخبه و آماتور و سایر شرکت کنندگان در تحقیق، هیات کاراته استان اصفهان و استاد علی کمالی مربی ارزنده تیم ملی تشکر و سپاسگزاری بعمل می آوریم.

منابع

1. Matej Babic, Ana Kezic, Drazen Cular. The Future of Genetic Testing in Taekwondo: Opportunities and Challenges. 2023. *Physical Activity Review*; 2023 10(2): 21-33. https://www.researchgate.net/publication/369440096_The_Future_of_Genetic_Testing_in-Taekwondo_Opportunities_and_Challenges
2. Khaledi N, Milani R, Arjmand S. Frequency of single nucleotide polymorphisms in athletic performance and athletic talent responsible genes of Iranian population and elite athletes, *Bulletin of Application Sport Physiology*. 2014; 21:101-16. [In Persian]. https://sjimu.medilam.ac.ir/browse.php?a_id=7441&slc_lang=en&sid=1&printcase=1&hbnr=1&hmb=1
3. Salehi M, Ahmadpour A, Mohaddes M, Evaluation of actn3 polymorphism in Iranian elite athletes. *Sport Physiology (Research on Sport Sciene)*. 2012;4(13):13– 21. [In Persian]. https://jsb.ut.ac.ir/article_81854.html?lang=en
4. MacArthur, D. G., & North, K. N. Genes and human elite athletic performance. *Human genetics*. 2005. 116(5), 331-339. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15726413/>
5. Ahmetov, I. I., Rogozkin, V. A. Genes, athlete status and training—An overview. *Med Sport Sci*. 2009; 54(4): 43-71. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19696507/>
6. Ahmetov II, Fedotovskaya ON. Current progress in sports genomics. *Advances in Clinical Chemistry*. 2015; 70:247-314. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26231489/>
7. Hassan EA, Ali BM, Ali MM. Relationship Between maximum-intensity training with the gene expression of the female players of the Egypt national karate team. *Training*. 2011;1(13):13-7. [https://www.idosi.org/wjss/5\(2\)11/6.pdf](https://www.idosi.org/wjss/5(2)11/6.pdf)
8. Rankinen, T, An P Rice, T, Sun G, Chagnon . C, Gagnon J, Bouchard C. Genomic scan for exercise blood pressure in the health, risk factors, exercise training and genetics (HERITAGE) family study. *Hypertension*.2001; 38(1), 30-37. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11463756/>
9. Brewster UC, Perazella MA. (2004). The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: Effects on kidney disease. *Am J Med*. 2004; 116(3):263–272. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0002934303006879>

10. M.R Batavani, K Ghaedi. Comparison of Total Genotype Score (TGS) of Power/Strength Responsible ACE, HIF1 α and IGF1 Polymorphisms of Elite, Amateur Karate-kas vs. nonAthletes. *Sport Physiology*. 2022; 14(53): 149-176. [In Persian]. https://spj.ssric.ac.ir/article_2207_en.html
11. Imamura, H. Yoshimura. Y. Uchida. K. Nishimura. S. Nakazaw. Maximal Oxygen uptake, Body Composition and strength of Highly competitive and Novice karate practitioners. *Journal of Physiological Anthropologies*. 1998;17(5):215-218. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9844250/>
12. N Boroushak, M Anbarian, A Comparison of Time to Peak Torque and Acceleration Time in Elite Karate Athletes. *Journal of Paramedical Science and Rehabilitation*. 2015; 4(2): 69-75 https://jpsr.mums.ac.ir/article_4384.html
13. David Nunan. Development of a sports specific aerobic capacity test for karate - a pilot study. *J Sports Sci Med*. 2006; 1(5):47-53. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24357976/>
14. Doria C, Veicsteinas A, Limonta E, Maggioni MA, Aschieri P, Eusebi F, et al. Energetics of karate (kata and kumite techniques) in top-level athletes. *European Journal of Applied Physiology*. 2009;107(5):603-10. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19711097/>
15. Izham Cid-Calfucura, Tomás Herrera-Valenzuela, Emerson Franchini, Coral Falco, Jorge Alvial-Moscoso, Carolina Pardo-Tamayo, et al. Effects of Strength Training on Physical Fitness of Olympic Combat Sports Athletes: A Systematic Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2023; 20(4): 16-35 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36834211/>
16. S. Nikoukheslat, J. Vakili, S. Fatollahi. Effect of One Month of Common Trainings on Physical Fitness, Body Composition and Performance of Kata International Champions. *Sport Physiology*. 2019; 40(10):33-50. https://spj.ssric.ac.ir/article_1364.html
17. Boraita A, de la Rosa A, Heras M, Ana I, Canda A, Rabadán M, and Hernández M. Cardiovascular Adaptation, Functional Capacity, and Angiotensin-Converting Enzyme I/D Polymorphism in Elite Athletes, *Revista Española de Cardiología* (English Edition) 2010; 63(7): 810-819. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20609315/>
18. Eynon, N., Ruiz, J. R., Bishop, D. J., Santiago, C., Gómez-Gallego, F., Lucia, A., & Birk, R.. The rs12594956 polymorphism in the NRF-2 gene is associated with top-level Spanish athlete's performance status. *Journal of Science and Medicine in Sport*. 2013; 16(2), 135-139. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22749526/>
19. Maciejewska-Karłowska, A., Leońska-Duniec, A., Cięszczyk, P., Sawczuk, M., Eider, J., Ficek, K., & Sawczyn, S. The GABPB1 gene A/G polymorphism in Polish rowers. *Journal of human kinetics* . 2012; 31(): 115-120. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3588660/>
20. Babić, M, Kezić, A, Cular , D. he Future of Genetic Testing in Taekwondo: Opportunities and Challenges. *Physical Activity Review*. 2023; vol. 10(2):21-33. https://www.researchgate.net/publication/369440096_The_Future_of_Genetic_Testing_in-Taekwondo_Opportunities_and_Challenges
21. Eynon, N., Sagiv, M., Meckel, Y., Duarte, J. A., Alves, A. J., Yamin, C., ... & Oliveira, J. NRF2 intron 3 A/G polymorphism is associated with endurance athletes'

- status. Journal of Applied Physiology. 2010; 107(1): 76-79. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19478192/>
22. Eynon, N, Sagiv M, Meckel Y, Duarte J. A, Alves A. J, Yamin C J. NRF2 intron 3 A/G polymorphism is associated with endurance athletes' status. Journal of Applied Physiology. 2009; 107(1): 76-79. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19478192/>
23. Guilherme JPL, Souza-Junior TP, Lancha Junior AH. Association study of performance-related polymorphisms in Brazilian combat-sport athletes highlights variants in the GABPB1 gene. Physiol Genomics 2021; 53(2): 47-50. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33346691/>