

تاثیر تمرینات استقامتی و مقاومتی بر بهبود استخوان: مطالعه تراکم سنجی و

هیستومورفومتری رت های نر استئوپروتیک

مریم بان پروری^{۱*}، خلیل خیام باشی^۲، سیدمحمد مرندی^۳، سیدجمال مشتاقیان^۴، عباس صالحی کیا^۱

(۱) گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

(۲) گروه آسیب شناسی و حرکات اصلاحی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

(۳) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

(۴) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۱۳

چکیده

مقدمه: استئوپروسیس به عنوان یک بیماری سیستمیک اسکلتی تعریف می شود که به وسیله توده استخوانی پایین و خرابی ریزساختارهای بافت استخوان مشخص شده، باعث خطر افزایشی شکستگی می گردد. با این حال، ورزش مناسب برای پیشگیری و درمان پوکی استخوان مشخص نشده است. هدف مطالعه حاضر تعیین اثرات دو برنامه تمرینی با بار فزاینده بر ویژگی های استخوانی موش های نر استئوپروتیک بود.

مواد و روش ها: از بین ۳۰ سر موش صحرایی نر، ۶ موش به عنوان گروه سالم جدا شد، سپس پوکی استخوان با تزریق ۳ هفته ای صفاقی محلول اتانول ۲۰ درصد (۳ گرم/کیلوگرم/روز)، برای چهار روز پیاپی به مدت سه هفته در موش های باقی مانده القاء گردید. ۲۴ موش استئوپروتیک به چهار گروه تقسیم شدند ($n=6$)، پایه (به عنوان پیش آزمون گروه های تجربی)، تمرین مقاومتی، تمرین استقامتی و کنترل. دو گروه تمرینی ۵ روز در هفته به مدت ۱۲ هفته برنامه تمرینی را طبق پروتکل اجرا کردند. پروتکل استقامتی شامل دویدن روی تردمیل، ۱۲ متر دقیقه، ۱۰ تا حداکثر ۶۴ دقیقه/روز بود. پروتکل مقاومتی شامل ۸ ست صعود از نردبان ۱۱۰ سانتی متری با زاویه ۸۰ درجه با وزنه متصل به دم بود که از ۵۰ درصد وزن حیوان در ست اول تا ۱۰۰ درصد در ست هشتم افزایش داشت. در پایان مداخله، حیوانات کشته شدند و تراکم ماده معدنی استخوان (BMD) فمور و مهره چهارم+پنجم کمری ($L4+L5$) با دگزا اندازه گیری شد. ریزساختارهای بافت متافیز پروگزیمال تیبیا به وسیله روش های استاندارد هیستومورفومتیک و به کمک نرم افزار موتیک اندازه گیری شدند.

یافته های پژوهش: گروه های استقامتی ($P=0.035$) و مقاومتی ($P=0.001$) افزایش معناداری در BMD فمور در مقایسه با کنترل داشتند. BMD $L4+L5$ گروه مقاومتی و کنترل به طور معناداری بالاتر از گروه استقامتی بود ($P=0.001$). تنها تمرین مقاومتی به طور معناداری درصد تراکول ($P=0.018$) و ضخامت کورتیکال ($P=0.009$) را نسبت به کنترل افزایش و درصد فاصله تراکول ($P=0.02$) را کاهش داد. تعداد استئوسیت در هر دو گروه استقامتی و مقاومتی به طور معناداری بالاتر از کنترل بودند ($P=0.002$, $P=0.03$).

بحث و نتیجه گیری: تمرین مقاومتی در مقایسه با تمرین استقامتی، تغییرات مناسب موثرتری را در تراکم و پاتولوژی استخوانی در موش های نر استئوپروتیک القاء می کند.

واژه های کلیدی: استئوپروسیس، تمرین ورزشی، تراکم ماده معدنی، هیستومورفومتری

* نویسنده مسئول: گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

مقدمه

پوکی استخوان یک بیماری اسکلتی است که به وسیله توده استخوانی پایین و خرابی ریزساختارهای استخوان (Bone microarchitecture) مشخص می شود (۱). تغییرات ریزساختارها مانند ضخامت استخوان تراپکولار (Trabecular bone) یا به عبارتی تیغه های بافت اسفنجی، فاصله بافت تراپکولار (Terabecular separation) و ضخامت استخوان کورتیکال (Cortical bone) باعث بازسازی (remodeling) افزایشی افراد استئوپروتیک می گردد (۲). ریزساختارها (سازمان دهی فضایی بافت استخوانی) و توده استخوان دو عامل تعیین کننده قابلیت مکانیکی استخوان در برابر شکستگی هستند که بررسی آن ها در تحلیل استخوانی ناشی از کهولت سن ضروری است (۳). استحکام استخوان به شدت به توانایی ریزساختارها در توزیع استرس های محیطی منجر به استرین وابسته است و این وابستگی مستقل از تغییرات BMD است (۴). چگالی ریزساختارها بیش از ۹۰ درصد استحکام فشاری مهره و کششی تیبا را تبیین می کند (۴). با افزایش سن و تخریب ریزساختارها، پوکی استخوان، اگر چه به صورت غیر یکسان، اما در هر دو جنس اتفاق می افتد (۵،۶) به طوری که ابتدا با تخریب ریزساختارهای تراپکولار (Trabecular micro-architecture) متافیز استخوان های بلند و جسم مهره ها تحت تاثیر قرار می گیرد (۴). شکستگی استئوپروتیکی مهره و گردن استخوان ران علاوه بر ناتوانی، هزینه های درمانی بالایی به همراه خواهد داشت. در ایران ۵۰ درصد مردان و ۷۰ درصد زنان بالای پنجاه سال مبتلا به پوکی استخوان هستند (۷). بنا بر این باید به دنبال راه کارهایی جهت حفظ یا بهبود چگالی استخوانی در این بیماری بود. در حالی که گزینه های دارویی بسیاری برای پیشگیری و درمان این بیماری وجود دارد، اما استفاده بلند مدت از آن ها به دلیل عوارض جانبی دارای محدودیت است و از این رو محققان به دنبال راه کارهای غیر دارویی هستند. شواهد نشان می دهند فعالیت بدنی، یک مدل قابل دسترس و بدون عوارض جانبی است که علاوه بر پیشگیری و درمان این بیماری، با تقویت عضلات باعث افزایش ثبات قامتی

فرد شده و از خطر افتادن های منجر به شکستگی نیز جلوگیری می کند (۸) و از طریق سازگاری های حاصل از اعمال بار مکانیکی و تحریک متابولیک استخوان می تواند بر استحکام استخوان تاثیر گذارد (۹). با این حال فرآیندهای بیولوژیکی در پاسخ استئوژنیک استخوان به بارهای مکانیکی کاملاً شناخته نشده اند. با وجود حجم زیاد مقالات در خصوص اثر بخشی فعالیت ورزشی در مهار پوکی استخوان، نتایج ناهمگون زیادی گزارش شده است. به عنوان مثال حاگیهارا (۲۰۰۹) نشان داد ۸ هفته دویدن روی تردمیل (۱۵ متر/دقیقه، ۵ روز/هفته، ۳۰ دقیقه/روز) باعث افزایش معنادار BMD تراپکولار متافیز تیبا می شود و در مقابل دویدن ۱۸۰ دقیقه/روز به طور معناداری BMD کورتکس دیافیز و متافیز و تراپکولار دیافیز را کاهش می دهد (۱۰). جو و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که افزایش حداکثر بار مکانیکی دیافیز فمور موش، در اثر دویدن ۱۰ هفته ای بروی تردمیل (۳۰ متر/دقیقه، ۳۰ دقیقه/روز) به وسیله تغییرات دانسیته، ریزساختارهای اسفنجی و ژئومتری بافت تراکم استخوان ایجاد شده است (۱۱). در تحقیق دیگری ایواماتو (۲۰۰۹) با مقایسه سه نوع شدت تمرین استقامتی، نشان داد که تنها پروتکل تمرینی ۱۲ متر/دقیقه و ۱ ساعت/روز، باعث افزایش تراکم معدنی تیبا و قدرت مکانیکی فمور می شود در حالی که تراکم معدنی و حداکثر بار فشاری مهره پنج کمر همه شدت های تمرینی با کنترل تفاوتی نداشت (۱۲). از طرفی در مطالعات انسانی، ورزشکاران قدرتی و استقامتی به ترتیب بالاترین و پایین ترین سطح BMD را دارند (۱۳). در همین راستا به منظور مقایسه اثر ۸ هفته تمرینات مقاومتی و استقامتی در تحقیقات انسانی، بولام (۲۰۱۳) نشان داد که تمرین مقاومتی به تنهایی یا در ترکیب با فعالیت های ضربه ای، تمریناتی استخوان ساز (osteogenic) جهت بهبود افراد استئوپروتیک است، در حالی که تمرینات استقامتی اثرات محدودی بر BMD دارند. این مطالعه، پاسخ متفاوت دو نوع مدل تمرینی را نشان داد (۱۴). در مقابل نتایج تحقیق دسوزا و همکاران (۲۰۱۳) اثر بالقوه درمانی دو نوع تمرین بلند مدت استقامتی و مقاومتی بر جرم استخوانی فمور موش های مسن را نشان داد (۱۵). با وجود اثر مثبت تمرین ورزشی بر استخوان و بعضاً

استانداردهای موجود، کلیه موش ها در گروه های ۳ تا ۱۲ در قفس های پلی کربنات شفاف، دمای (۲۲±۲)°C، رطوبت ۵۵ درصد و سیکل روشنایی تناوبی ۱۲ ساعت نور-خاموشی نگهداری شدند. تغذیه موش ها با پلت غذا ساخت شرکت به پرور کرج (۰/۹۵) درصد کلسیم و ۰/۷ درصد فسفر) انجام گرفت. دسترسی به آب نامحدود بود. وزن بدن و غذای دریافتی به صورت روزانه پیش از تمرین اندازه گیری شد.

طرح آزمایش: از مجموع ۳۰ سر موش، ۶ سر به صورت تصادفی برای تعیین میزان طبیعی پارامترهای استخوان سالم قبل از تزریق اتانول، به عنوان گروه سالم انتخاب شدند. سپس ۲۴ موش باقی مانده، جهت کاهش چگالی استخوان و القای استئوپوروسیس، با تزریق ۳ هفته ای صفاقی محلول ۲۰ درصد الکل (با دوز ۳ گرم به ازای هر ۱ کیلوگرم وزن بدن، ۱ نوبت/روز و ۴ روز/هفته) استئوپروتیک شدند (۱۸). با توجه به این که ارزیابی تهاجمی هیستومورفومتری و دنسیتومتری استخوان در موش ها مستلزم استخراج نمونه های استخوانی و انهدام حیوان است، لذا تعداد ۶ سر موش استئوپروتیک به صورت تصادفی، به عنوان گروه مرحله پایه (پیش از آزمون گروه های مورد مطالعه) انتخاب تا امکان ارزیابی متغیرهای تحقیق در پیش و پس از آزمون فراهم گردد. سپس مابقی موش ها به ۳ گروه شامل گروه استقامتی، مقاومتی و کنترل (هر یک شامل ۶ سر موش) تقسیم شدند. شروع تمرینات در ۱۲ هفتگی موش ها و پس از ۱۲ هفته تمرین، در ۲۴ هفتگی کشته شدند.

تمرین استقامتی: موش های گروه استقامتی به مدت ۱۲ هفته، برنامه تمرینی دویدن بروی تردمیل با شیب صفر، ۱۲ متر/دقیقه، ۵ روز/هفته، یک جلسه (۱۰ دقیقه)/روز در هفته اول و به طور پیشرونده تا ۶۴ دقیقه در هفته دوازدهم را اجرا کردند. برنامه آشناسازی یک هفته دویدن شامل ۸ تا ۱۰ متر/دقیقه، ۵ روز/هفته و ۵ تا ۱۰ دقیقه/روز بود (۱۹).

تمرین مقاومتی: موش های گروه مقاومتی به مدت ۱۲ هفته، بروی یک نردبان با طول ۱۱۰ cm (شیب ۸۰°) با وزنه های متصل به دم آن ها تمرین داده شدند. آن ها یک جلسه در روز، ۵ روز در هفته تمرین کردند. هر جلسه تمرین شامل ۸ ست بالا رفتن

تناقضات موجود در این مطالعات، هنوز ویژگی های تمرین از قبیل شدت، مدت، تکرار و نوع تمرین، که به طور موثرتری توده استخوان را افزایش و یا تخریب آن را کاهش دهد، به طور قطع تعیین نشده است (۱۶). از سوی دیگر برخی مطالعات نشان می دهند که فعالیت بدنی، از طریق بهبود ریزساختارهای استخوان تراکولار و کورتیکال، قدرت استخوان را افزایش می دهد به طوری که این اثرگذاری مستقل از BMD بوده و حتی ممکن است نتایج BMD تغییری نکرده باشد. این تحقیقات پیشنهاد کرده اند کاهش استحکام استخوان به همه عواملی چون تغییرات ریزساختارها و هندسه استخوان، خواص بیوفیزیکی بافت و کاهش توده استخوان وابسته است (۴) و توجه به تنها یکی از عوامل به شدت فریبنده و همه آن ها باید به وسیله مداخلات درمانی مد نظر قرار گیرند. برای مثال در مطالعه دروموند و همکاران (۲۰۱۳)، تمرین مقاومتی با وزنه، خواص مکانیکی فمور موش های نر را افزایش داد اما افزایشی در BMC و BMD مشاهده نشد (۱۷). از طرفی به دلیل محدودیت لزوم ارزیابی غیر تهاجمی استخوان در انسان، مطالعات انسانی در زمینه بررسی اثر تمرین بر استخوان، تنها بر ارزیابی BMD متمرکز شده اند. ارزیابی سایر ویژگی های مرتبط با قدرت استخوان در کنار BMD، به عنوان مرسوم ترین روش ارزیابی استخوان، با امکان مقایسه نتایج، می تواند بر تایید یا عدم تایید نتایج BMD صحنه بگذارد. به نظر می رسد هیستومورفومتری اگر چه به عنوان یک روش کاملا تهاجمی است، اما می تواند اطلاعات عینی تری را از تغییرات درون بافتی استخوان در اختیار ما قرار دهد. بنا بر این در مطالعه حاضر در کنار روش ارزیابی BMD به وسیله دستگاه دگزا، از مطالعه هیستومورفومتری استفاده گردید تا در صورت همسو بودن نتایج دو روش، بتوان از نتایج دگزا با اطمینان بیشتری استفاده کرد. لذا هدف مطالعه حاضر مقایسه اثر دو نوع تمرین ورزشی بر BMD و ریزساختارهای استخوانی موش های نر استئوپروز شده بود.

مواد و روش ها

نوع پژوهش حاضر، طرح تجربی حقیقی بود. ۳۰ سر موش نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزن اولیه ۱۸۰-۲۰۰ گرم نمونه پژوهش را تشکیل دادند. بر طبق

فاصله تراپکولایی محاسبه شد. سپس با استفاده از گزینه length نرم افزار، ضخامت کورتیکال در ۱۰ ناحیه هر کدام از مقاطع لام تهیه شده دیافیز تیبیا اندازه گیری شده، میانگین آن ها محاسبه و بر حسب میکرومتر ثبت شد. پس از آن تعداد سلول های استئوسیت با بزرگ نمایی $200\times$ در میدانی برابر با $20489/7$ میکرومتر مربع شمارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS vol.20 و آزمون های کولموگروف-اسمیرنوف و لوین به ترتیب برای بررسی توزیع نرمال و همگونی واریانس داده ها استفاده شد. آزمون t مستقل برای مقایسه متغیرها بین دو گروه سالم و پایه جهت بررسی القای استئوپوروسیس، آزمون پارامتریک t زوجی، برای بررسی تغییرات متغیرهای تحقیق، قبل و پس از ۱۲ هفته تمرین استفاده گردید. آنالیز واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی برای بررسی تغییرات بین گروهی پس از ۱۲ هفته تمرین با سطوح معنادار آماری $0/05$ استفاده شد.

یافته های پژوهش

تفاوت آماری معناداری در میزان وزن و سن آزمودنی ها وجود نداشت. جهت بررسی تاثیر الکل بر ایجاد استئوپوروسیس در گروه های مورد مطالعه به مقایسه بافت تراپکولار و BMD دو گروه پایه استئوپروتیک (پیش آزمون) و سالم پرداختیم. بر این اساس، نتایج مطالعه اولیه (آزمون t مستقل) نشان داد که BMD گروه استئوپروتیک پایه ($0/12 \pm 0/019$) در مقایسه با گروه سالم ($0/22 \pm 0/01$) کاهش معناداری داشته است ($P=0.00$). به علاوه درصد تراپکولا گروه استئوپروتیک پایه ($13/21 \pm 7/00$) در مقایسه با گروه سالم ($51/50 \pm 9/5$) کاهش معناداری داشته است ($P=0.00$).

یافته های تراکم سنجی استخوان: بر اساس نتایج جدول شماره ۱، ۱۲ هفته تمرین استقامتی و مقاومتی باعث افزایش معنادار BMD فمور نسبت به مقادیر پیش آزمون شد ($P=0.000$, $P=0.001$) در حالی که این افزایش در گروه کنترل به دست نیامد ($P=0.144$). نتایج BMD L4+L5 دو گروه کنترل و مقاومتی افزایش معناداری نسبت به مقادیر پیش آزمون داشت ($P=0.002$, $P=0.000$). در حالی که این تفاوت

بود. وزنه حمل شده در طی هر جلسه به طور پیشرونده افزایش داشت به طوری که در ست های اول و دوم، برابر با ۵۰ درصد، ست های سوم و چهارم ۷۵ درصد، ست های پنجم و ششم ۹۰ درصد و در پایان ست های هفتم و هشتم ۱۰۰ درصد وزن بدن حیوان بود. ۶۰ ثانیه استراحت بین دو ست بود (۲۰). قبل از تمرین اصلی یک هفته آشناسازی با نردبان انجام شد و موش ها در یک سوم بالایی، میانی و پایینی نردبان قرار گرفته و به بالا هدایت می شدند.

آماده سازی نمونه های استخوانی: پس از ۱۲ هفته تمرین، موش ها در ظرف دسیکاتور به وسیله اتر بیهوش شدند. تیبیای راست جهت مطالعه مورفومتری پس از پاکسازی بافت های نرم، در محلول فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. فمور راست و مهره های L4+L5 جهت ارزیابی BMD از بافت نرم جدا شده و تا زمان انجام تست در دمای -20 درجه سانتی گراد در فریزر نگهداری شدند. ۳ ساعت قبل از انجام تست، نمونه ها در دمای اتاق قرار داده شده و با سالیین مرطوب شدند.

تراکم سنجی استخوان: BMD متافیز فمور و L4+L5 به وسیله دستگاه (DIGITAL 2D DENSITOMETER, LEXXOS, USA) DEXA که در حالت وضوح فوق العاده بالا (ultra-high resolution mode) برای ارزیابی حیوانات کوچک تنظیم شده بود، در مرکز رادیولوژی دکتر نورالدینی شهر بابل اندازه گیری شد. دقت دستگاه برابر $99/5$ درصد بود (۱۱).

مطالعه هیستومورفومتری بافت استخوانی اسفنجی و کورتیکال: پس از تثبیت نمونه ها به وسیله اسید نیتریک ۵ درصد، کلسیم زدایی و بلوک های پارافینه تهیه شد. مقاطع ۵ میکرونی بلوک های پارافینی به طور سریال از ناحیه متافیز فوقانی و دیافیز تیبیا تهیه و به دو روش همتوکسیلین-آئوزین و تری کروم ماسون رنگ آمیزی شدند. سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری و نرم افزار Release 1.2 Images 2000 Motic و با بزرگ نمایی $40\times$ در میدانی به طول $1709/1$ میکرومتر و عرض $1449/4$ میکرومتر و مساحتی برابر با 2477141 میکرومتر مربع، پارامترهای مساحت تراپکولاهای استخوان اسفنجی، مساحت

در گروه استقامتی معنادار نبود ($P=0.235$). از طرفی بر اساس آنالیز واریانس یک طرفه، BMD فمور دو گروه تمرین مقاومتی و استقامتی تفاوت معناداری نداشتند ($P=0.241$)، اما این متغیر در دو گروه استقامتی و مقاومتی به طور معناداری بالاتر از کنترل بود (به ترتیب $P=0.001$, $P=0.035$) بین BMD L4+L5 گروه کنترل و مقاومتی تفاوت معناداری وجود نداشت ($P=0.999$) اما دو گروه کنترل و مقاومتی به طور معناداری بالاتر از گروه استقامتی بودند ($P=0.001$, $P=0.001$) (نمودار شماره ۱).

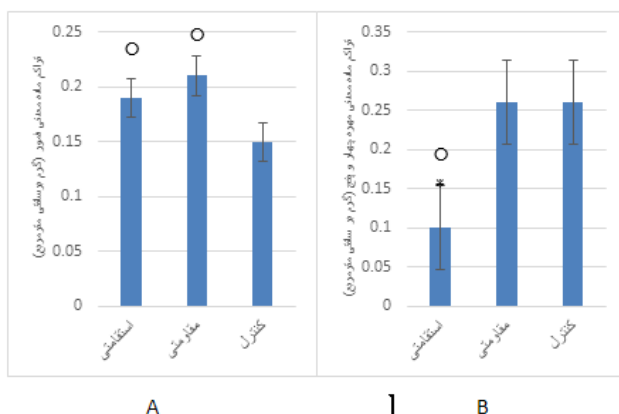
یافته های پاتولوژی و ژئومتری هیستومورفومتری استخوان تیبیا؛ بر اساس نتایج جدول شماره ۲، ۱۲ هفته تمرین استقامتی و مقاومتی منجر به افزایش معنادار درصد تراکول ($P=0.00$, $P=0.013$) و تعداد استئوسیت ($P=0.00$, $P=0.00$) و کاهش معنادار درصد

فاصله ($P=0.00$, $P=0.013$) نسبت به مقادیر پیش آزمون شد. از طرفی تنها ضخامت کورتیکال گروه مقاومتی نسبت به مقادیر پیش آزمون افزایش معناداری داشت ($P=0.05$) در حالی که گروه کنترل، در هیچ کدام از پارامترها افزایشی را نسبت به مقادیر پیش آزمون نشان نداد. از طرفی بر اساس آنالیز واریانس یک طرفه، (شکل شماره ۱) تنها درصد تراکول ($P=0.018$) و ضخامت استخوان متراکم گروه مقاومتی ($P=0.009$) به طور معناداری بالاتر از کنترل بود. درصد فاصله تراکول گروه مقاومتی به طور معناداری پایین تر از کنترل بود ($P=0.02$). تعداد استئوسیت های گروه استقامتی ($P=0.03$) و گروه مقاومتی ($P=0.002$) افزایش معناداری را نسبت به کنترل نشان دادند (نمودار شماره ۲).

جدول شماره ۱. میانگین \pm انحراف معیار وزن بدن و تراکم ماده معدنی استخوان فمور و L4+5 رت های نر استئوپروتیک قبل و پس از ۱۲ هفته تمرین

گروه ها (n=6)	مرحله	سن (هفته)	وزن بدن (گرم)	تراکم ماده معدنی فمور (سانتی متر ^۲ /گرم)	تراکم ماده معدنی تراکم ماده معدنی مهره چهارم+پنجم (گرم/سانتی متر ^۲)
استقامتی	پیش آزمون	۱۲	۵۰/۲۴۶	۰/۰۱۹ \pm ۰/۱۲	۰/۱۸/۰ \pm ۰/۸/۰
	پس آزمون	۲۴	۵۰/۳۹۳	۰/۰۲۲ \pm ۰/۱۹	۰/۰۴۷ \pm ۰/۱۰
مقاومتی	پیش آزمون	۱۲	۶۷/۲۴۹	۰/۰۱۹ \pm ۰/۱۲	۰/۱۸/۰ \pm ۰/۸/۰
	پس آزمون	۲۴	۱۷/۴۰۴	۰/۰۰۶ \pm ۰/۲۱	۰/۰۶۰ \pm ۰/۲۶
کنترل	پیش آزمون	۱۲	۸۳/۲۵۰	۰/۰۱۹ \pm ۰/۱۲	۰/۱۸/۰ \pm ۰/۸/۰
	پس آزمون	۲۴	۶۷/۴۰۸	۰/۰۳۲ \pm ۰/۱۵	۰/۰۱۴ \pm ۰/۲۶

● نشانه اختلاف معناداری در سطح ۰/۰۵ و # در سطح ۰/۰۱ در مقایسه با مقادیر پایه ○ نشانه اختلاف معناداری در سطح ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل * نشانه اختلاف معناداری در سطح ۰/۰۵ در مقایسه با گروه مقاومتی



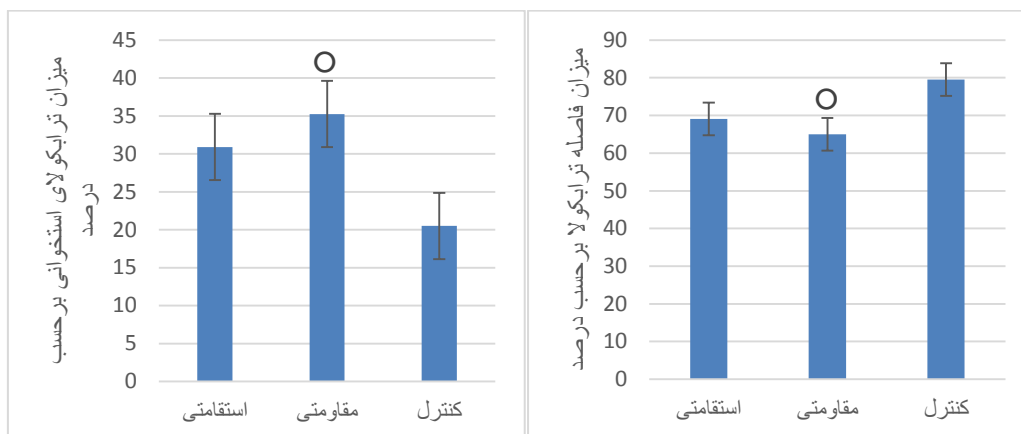
نمودار شماره ۱. مقایسه میانگین تراکم ماده معدنی استخوان در گروه های مورد مطالعه پس از ۱۲ هفته تمرین (A: تراکم ماده معدنی فمور و B: تراکم ماده معدنی مهره چهارم+پنجم کمتری). ○ نشانه اختلاف معناداری در سطح ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل * نشانه اختلاف معناداری در سطح ۰/۰۵ در مقایسه با گروه مقاومتی

جدول شماره ۲. میانگین \pm انحراف معیار پارامترهای مورفولوژی و پاتولوژی متافیز و دیفیز تییبای

رت های نر استئوپروتیک قبل و پس از ۱۲ هفته تمرین

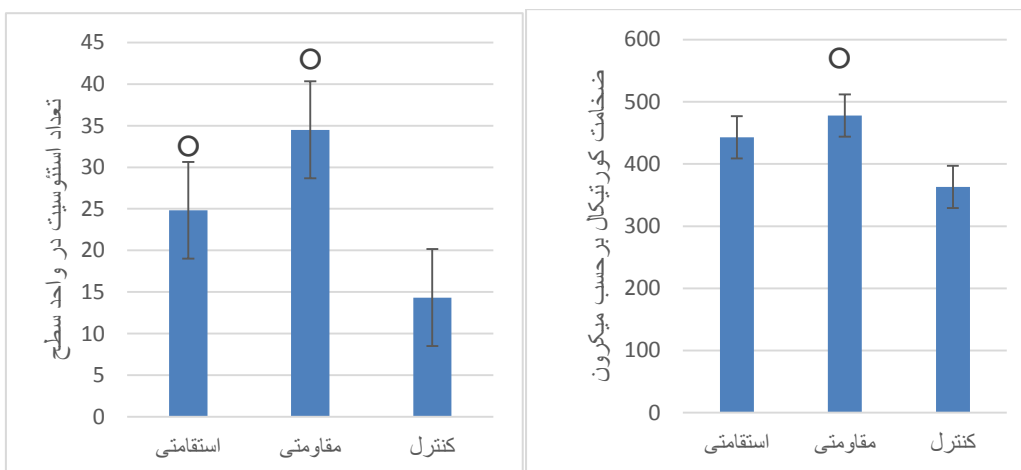
گروه ها (n=6)	مرحله	درصد تراکولا (%)	درصد فاصله تراکولا (%)	ضخامت کورتیکال (میکرون)	تعداد استئوسیت
استقامتی	پیش آزمون	7/00 \pm 13/21	6/96 \pm 86/86	73/41 \pm 369	0/75 \pm 83/14
	پس آزمون	10/62 \pm 30/91	10/62 \pm 69/08	29/25 \pm 443	0/22 \pm 24/83
مقاومتی	پیش آزمون	7/00 \pm 13/21	6/96 \pm 86/86	73/41 \pm 369	0/75 \pm 83/14
	پس آزمون	6/57 \pm 35/25	6/80 \pm 65/00	89/24 \pm 478	0/71 \pm 50/34
کنترل	پیش آزمون	7/00 \pm 13/21	6/96 \pm 86/86	73/41 \pm 369	0/75 \pm 83/14
	پس آزمون	6/10 \pm 20/50	10/00 \pm 79/50	65/52 \pm 363	0/69 \pm 14/33

● نشانه اختلاف معناداری در سطح 0/05 و # در سطح 0/01 در مقایسه با پیش آزمون ○ نشانه اختلاف معناداری در سطح 0/05 در مقایسه با گروه کنترل * نشانه اختلاف معناداری در سطح 0/05 در مقایسه با گروه مقاومتی



A

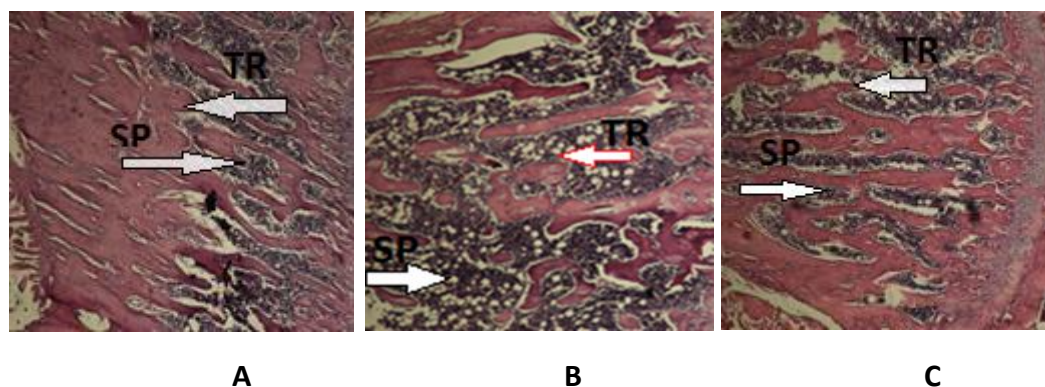
B



C

D

نمودار شماره ۲. مقایسه میانگین پارامترهای هیستومورفومتری تیبا در گروه های مورد مطالعه پس از ۱۲ هفته تمرین (A: میزان فاصله تراکولا، B: میزان تراکولا استخوانی، C: ضخامت کورتیکال و D: تعداد استئوسیت) ○ نشانه اختلاف معناداری در سطح 0/05 در مقایسه با گروه مقاومتی * نشانه اختلاف معناداری در سطح 0/05 در مقایسه با گروه مقاومتی



شکل شماره ۱. تصویر بافت شناسی استخوان تراپکولار در گروه های مورد مطالعه پس از ۱۲ هفته تمرین. در اندازه گیری های سطوح استخوانی با استفاده از موتیک، درصد سطح تراپکولار گروه مقاومتی بالاتر و درصد سطح فاصله تراپکولار گروه مقاومتی به طور معناداری پایین تر از کنترل بود (A: گروه کنترل و B: گروه استقامتی و C: گروه مقاومتی) (بزرگ نمایی $\times 40$): TR: تراپکولای استخوانی SP: فاصله تراپکولار.

بحث و نتیجه گیری

هدف مطالعه حاضر، مقایسه اثرات دو نوع تمرین ورزشی استقامتی و مقاومتی بر BMD و ریزساختارهای استخوانی موش های نر استئوپروتیک بود. دو یافته اصلی در مطالعه حاضر به دست آمد. نخست، هر دو نوع تمرین استقامتی و مقاومتی اثر افزایشی معناداری را بر BMD فمور نسبت به گروه کنترل نشان دادند، در حالی که اثر تمرین مقاومتی بر $L4+L5$ BMD افزایشی و اثر تمرین استقامتی کاهش بود. دوم، تنها گروه مقاومتی باعث افزایش معنادار پارامترهای هیستومورفومتریک استخوان در مقایسه با گروه کنترل گردید. بر اساس نتایج برنامه های مداخله ای، مشخص شده است که فعالیت بدنی به طور بالقوه، با اثربخشی بر ویژگی های استخوانی، در بهبود و کاهش خطر شکستگی استخوان موثر است (۱۱). بار مکانیکی وارد بر استخوان، درون شبکه سیال لاکونار-کانالیکولار استخوان، شیبی (gradient) را ایجاد می کند که باعث افزایش وقایع درون سلولی مانند افزایش کلسیم درون سلولی، تولید ماتریکس و استخوان سازی (osteogenesis) می گردد (۲۱). در مطالعه حاضر، BMD فمور گروه استقامتی به طور معناداری بالاتر و $L4+L5$ BMD پایین تر از کنترل بود، که این اثرات، به وسیله چندین محقق گزارش شده است (۱۱، ۱۵، ۲۲). به لحاظ آناتومیکی و موقعیت قرار گیری، استخوان های بلند متحمل وزن (Weight-bearing) مانند تیبیا و فمور در موش، با مهره های

کمری تفاوت دارند، به طوری که در طی دویدن، بار مکانیکی بیشتری بر این دو استخوان وارد می شود که جهت تحریک پاسخ استئوژنیک استخوان لازم است (۲۴). لذا به نظر می رسد تمرین استقامتی تنها بر تشکیل موضعی استخوان در استخوان های بلند متحمل وزن، اثر بگذارد. این یافته تحقیق با نتایج دسوزا (۲۰۱۳) هم خوانی دارد (۱۵). نتیجه تحقیق حاضر با یافته های کانوس (۲۳) نیز مبنی بر اثر افزایشی ۸ هفته دویدن بروی تردمیل بر BMD فمور موش ها، به علاوه با یافته های ایواماتو (۲۰۰۹) در خصوص افزایش BMD فمور و عدم افزایش $L4+L5$ BMD هم خوانی دارد. همسانی شدت و مدت برنامه تمرین در تحقیقات ذکر شده با تحقیق حاضر را احتمالاً می توان موید هم خوانی نتایج دانست چرا که بیان شده است شدت و مدت تمرین در افزایش توده استخوانی موثر هستند (۲۴). نتایج مطالعه حاضر با بخشی از یافته های جو و همکاران (۲۰۱۳) در خصوص افزایش BMD و حجم استخوان تراپکولار موش ها در اثر ۱۰ هفته دویدن با پروتکل ۳۰ متر/دقیقه و ۵ روز/هفته هم خوانی داشته اما با بخش دیگر، در خصوص افزایش ضخامت کورتکس دیافیز همسو نیست (۱۱). به علاوه نتایج حاضر با نتایج بورین (۲۰۱۰) مبنی بر اثر تخریبی ۱۱ هفته دویدن شدت بالا (۱۰۵ دقیقه/روز، ۳۰ متر/دقیقه) بر سیستم اسکلتی (۲۵) و نتایج حاکیها را مبنی بر کاهش بافت میله ای استخوان های بلند در اثر ۱۸۰ دقیقه دویدن در روز بر تردمیل مطابقت ندارد.

مطالعات نشان داده اند سطح آستانه ای از ویژگی های تمرین هوازی لازم است تا بتواند کیفیت استخوان را ارتقاء دهد و افزایش بیش از حد متغیرهای تمرینی مانند مدت تمرین، نه تنها اثر بهبودی بر کیفیت استخوان نداشته بلکه ممکن است اثرش معکوس باشد (۲۶). عدم هم خوانی یافته حاضر با نتایج عنوان شده، احتمالاً با این مسئله مرتبط است. به طوری که یافته های پژوهشی نشان داده اند اجرای تمرین استقامتی کوتاه مدت (۳۰ دقیقه/روز) ممکن است با توقف تخریب استخوانی (BMD, Bone resorption) را افزایش داده، در حالی که تمرین استقامتی بلند مدت (۱۸۰ دقیقه/روز)، با توقف تشکیل استخوانی (Bone formation) BMD را کاهش دهد (۱۰). در بخش دیگر نتایج، نواحی متافیز و دیافیز تیبیا، پاسخ متفاوتی به تمرین استقامتی نشان دادند که می تواند ناشی از تفاوت ترکیب بافت استخوانی دو ناحیه باشد. نشان داده شده است، تاثیر بار مکانیکی ناشی از تمرین، بر تشکیل بافت استخوانی کورتیکال بسیار کمتر از تراکولار است (۲۷) و اثر پذیری بافت تراکولار را می توان به تفاوت ساختاری و جریان خون بالای آن نسبت داد که باعث افزایش فعالیت متابولیکی و بارگیری مکانیکی آن می گردد (۱۰).

در نتایج هیستومورفومتری، درصد تراکولار و ضخامت کورتیکال گروه مقاومتی به طور معناداری بالاتر و درصد فاصله تراکولار پایین تر از کنترل بود. این بخش از نتایج با یافته های نوتومی (۲۸) که نشان داد تمرین مقاومتی، پارامترهای تشکیل پریوستال میان تنه فمور موش را افزایش می دهد، هم خوانی دارد. مشخص شده است که ورزش های تحمل وزن باعث افزایش BMD در انسان و حیوان می شوند. در مطالعات انسانی، ورزشکاران قدرتی بالاترین و استقامتی پایین ترین سطح BMD را داشتند (۱۳). گزارش شده است تمرین مقاومتی با ایجاد و توزیع فشارهای مکانیکی غیر یکنواخت باعث تغییرات استخوانی می شود (۲۹) و احتمالاً بار مکانیکی بهینه و میزان بالای استرین این نوع تمرین، بر بهبود کیفیت استخوان تاثیر می گذارد (۳۰). به علاوه این نوع تمرین می تواند با کاهش تخریب استخوان از طریق کاهش تعداد استئوکلاست ها و افزایش تشکیل استخوان از

طریق افزایش تعداد استئوبلاست ها بر کیفیت استخوان موثر باشد (۲۷،۳۰). با این حال هنوز مشخص نیست که دلیل اصلی افزایش توده استخوانی ناشی از تمرین، کدام یک از عوامل کاهش تحلیل یا افزایش تشکیل استخوان است. برخی تحقیقات از دخیل بودن هر دو عامل حمایت می کنند (۲۷). برآیند نتایج تمرین مقاومتی در دو ناحیه دیافیز و متافیز تیبیا نشان می دهد که این تمرین با اعمال بار و فشار مکانیکی، بر هر دو نوع بافت تراکولار و کورتیکال تاثیر می گذارد (۳۱). نکته قابل توجه دیگر در این مطالعه، همسو نبودن نتایج BMD فمور با هیستومورفومتری تیبیا به عنوان دو استخوان متحمل وزن، در گروه استقامتی بود. در توجیه آن می توان به برخی مطالعات اشاره نمود که نشان داده اند فعالیت بدنی، قدرت استخوانی را به واسطه بهبود ریزساختارهای تراکولار و کورتیکال بدون تغییر در BMD افزایش داده است. این یافته حاوی این نتیجه کلینیکی است که علی رغم این که دگزا یک روش ارزیابی غیر تهاجمی است، اما نتایج BMD حاصل از آن، تنها یکی از عوامل تعیین کننده استحکام استخوان است و مواردی چون ریزساختارها، تراکم استئوسیت و هندسه استخوان ممکن است مستقل از BMD، در کاهش یا افزایش خطر شکستگی نقش داشته باشند (۲،۴). در همین راستا یافته های مطالعه فونسکا و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که تمرین مقاومتی از کاهش حجم تراکولار L5 موش های اوراکتومی جلوگیری نموده اما تغییر قابل ملاحظه ای در BMD ایجاد نکرده است (۴). با توجه به تفاوت نتایج دو روش ارزیابی هیستومورفومتری (روش تهاجمی) و دگزا (روش غیر تهاجمی) باید تفسیر نتایج دگزا با تامل بیشتری مورد استفاده قرار گیرد (۱۵). یافته های پژوهش حاضر نشان داد، اگر چه تمرین استقامتی، BMD استخوان های متحمل وزن موش های استئوپروتیک را افزایش داد اما تمرین مقاومتی منجر به تغییرات موثرتری در BMD و هیستومورفومتری استخوان گردید. بر اساس نتایج این مطالعه می توان نتیجه گرفت که تمرینات مقاومتی ممکن است به عنوان یک راهبرد مفید برای تحریک استخوان سازی (۱۴) در جمعیت رو به رشد سالمندان مورد استفاده واقع شود.

References

1. Zhang Y, Li Y, Gao Q, Shao B, Xiao J, Zhou H, et al. The variation of cancellous bones at lumbar vertebra femoral neck mandibular angle and rib in ovariectomized sheep. *Arch Oral Biol* 2014; 59:663-9.
2. Armas LA, Recker RR. Pathophysiology of osteoporosis new mechanistic insights. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2012;41:475-86.
3. Xiang Y, Yingling VR, Malique R, Li CY, Schaffler MB, Raphan T. Comparative assessment of bone mass and structure using texture-based and histomorphometric analyses. *Bone* 2007;40:544-52.
4. Fonseca H, Moreiragonçaves D, Coriolano HJ, Duarte JA. Bone quality: the determinants of bone strength and fragility. *Sports Med* 2014;44:37-53.
5. Parkinson IH, Fazzalari NL. Characterisation of trabecular bone structure. *Stud Mechanobiol Tissue Eng Biomater* 2013;5:31-51.
6. Thomsen JS, Niklassen AS, Ebbesen EN, Bruel A. Age-related changes of vertical and horizontal lumbar vertebral trabecular 3D bone microstructure is different in women and men. *Bone* 2013;57:47-55.
7. Khorsandi J, Shamsi M, Jahani F. [The survey of practice about prevention of osteoporosis based on health belief model in pregnant women in Arak city]. *J Rafsanjan Univ Med Scie* 2013;12.(Persian)
8. Diazcuriel M. Effects of exercise on osteoporosis. *J Osteopor Phys Act* 2013; 1:1-2.
9. Lirani AP, Lazaretti-Castro M. Evidences of physical agents action on bone metabolism and their potential clinical use. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2005;49:891-6.
10. Hagihara Y, Nakajima A, Fukuda S, Goto S, Iida H, Yamazaki M. Running exercise for short duration increases bone mineral density of loaded long bones in young growing rats. *Tohoku J Exp Med* 2009;219:139-43.
11. Joo YI, Sone T, Fukunaga M, Lim SG, Onodera S. Effects of endurance exercise on three-dimensional trabecular bone microarchitecture in young growing rats. *Bone* 2003;33:485-93.
12. Iwamoto J. Differential effect of treadmill exercise on three cancellous bone sites in the young growing rat. *Bone* 1999; 24:163-9.
13. Hinrichs T, Chae EH, Lehmann R, Allolio A, Platen P. Bone mineral density in athletes of different disciplines: a cross-sectional study. *J Sports Scie* 2010;3:129-33.
14. Bolam KA, Vanuffelen JG, Taaffe DR. The effect of physical exercise on bone density in middle-aged and older men: A systematic review. *Osteoporos Int* 2013; 24: 2749-62.
15. Mosekilde L, Danielsen CC, Sogaard CH, Thorling E. The effect of long-term exercise on vertebral and femoral bone mass, dimensions, and strength-assessed in a rat model. *Bone* 1994;15:293-301.
16. Colletti LA, Edwards J, Gordon L, Shary J, Bell NH. The effects of muscle-building exercise on bone mineral density of the radius, spine, and hip in young men. *Calcif Tissue Int* 1989; 45:12-4.
17. Drummond LR, Delcarlo RJ, Del C, Soaresmelo SF, Carneirojunior MA, Dasilva KA, et al. Enhanced femoral neck strength in response to weightlifting exercise training in maturing male rats. *Int Sport Med J* 2013;14:155-67.
18. Tang CH, Huang TH, Chang CS, Fu WM, Yang RS. Water solution of onion crude powder inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis through ERK, p38 and NF-kappaB pathways. *Osteoporos Int* 2009;20:93-103.
19. Iwamoto J, Takeda T, Sato Y. Effect of treadmill exercise on bone mass in female rats. *Exp Anim* 2005;54:1-6.
20. Cassilhas RC, Reis IT, Venâncio D, Fernandes J, Tufik S. Animal model for progressive resistance exercise a detailed description of model and its implications for basic research in exercise. *Mot Rio Clar* 2013;19:178-84.
21. Renno AC, Silveiragomes AR, Nascimento RB, Salvini T, Parizoto N. Effects of a progressive loading exercise program on the bone and skeletal muscle properties of female osteopenic rats. *Exp Gerontol* 2007;42:517-22.
22. Maimoun L, Sultan C. Effects of physical activity on bone remodeling. *Metabolism* 2011;60:373-88.
23. Kannus P, Sievanen H, Jarvinen TL, Jarvinen M, Kvist M, Oja P, et al. Effects of free mobilization and low- to high-intensity treadmill running on the immobilization-

- induced bone loss in rats. *J Bone Min Res* 1994;9:1613-9.
24. Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S. Effects of exercise on bone mineral density in mature osteopenic Rats. *J Bone Miner Res* 1998;13:1308-17.
25. Bourrin S, Palle S, Pupier R, Vico L, Alexandre C. Effect of physical training on bone adaptation in three zones of the rat tibia. *J Bone Miner Res* 2010;10:1745-52.
26. Karlsson MK, Magnusson H, Karlsson C, Seeman E. The duration of exercise as a regulator of bone mass. *Bone* 2001;28:128-32.
27. Li L, Chen X, Lv S, Dong M, Zhang L, Tu J. Influence of exercise on bone remodeling-related hormones and cytokines in ovariectomized rats: a model of postmenopausal osteoporosis. *Plos One* 2014; 9:1-10.
28. Notomi T, Okimoto N, Okazaki Y, Tanaka Y, Nakamura T, Suzuki M. Effects of tower climbing exercise on bone mass, strength, and turnover in growing rats. *J Bone Miner Res* 2001;16:166-74.
29. Sinaki M, Pfeifer M, Preisinger E, Itoi E, Rizzoli R, Boonen S, et al. The role of exercise in the treatment of osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep* 2010;8:138-44.
30. Schmitt NM, Schmitt J, Doren M. The role of physical activity in the prevention of osteoporosis in postmenopausal women-an update. *Maturitas* 2009 20;63:34-8.
31. Golub EE. Role of matrix vesicles in biomineralization. *Biochim Biophys Acta* 2009;7:1592-8.



Effect of Endurance and Resistance Training on the Improvement of Bone: A Densitometric and Histomorphometric Study in Male Osteoporotic Rats

Banparvari M^{1*}, Khayambashi K², Marandi M³, Moshtaghian J⁴

(Received: June 24, 2015

Accepted: October 5, 2015)

Abstract

Introduction: Osteoporosis is defined as a systemic skeletal disease characterized by low bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue, resulting in increased risk of fracture. However, appropriate exercise for the prevention and treatment of osteoporosis has not been determined. The aim of this study was to determine the effects of two progressive loading training program on the bone properties of Osteoporotic rat models.

Materials & methods: Among 30 male rats, 6 rats were separated as healthy group, Then Osteoporosis was induced in remaining rats by intraperitoneal injection of 20% ethanol solution (3g/kg/day) for four consecutive days for 3 weeks. 24 Osteoporotic rats were divided into 4 groups (n=6): baseline (As the baseline of the experimental groups), resistance training, endurance training and control. The two training groups completed 12 weeks of training program, 5 days a week according to protocol. The Endurance protocol includes running exercise on a treadmill for, 12 m/min, 10 to up 64 min/day. The Resistance protocol consisted of 8 series of climbs on the 110-cm vertical ladder angled at 80° with weight tied to animal tail that was increased from the 50% of the body mass of the animal in the first series to 100% in the eighth series. At the end of the intervention, the animals were

ethanized and the Bone mineral density (BMD) of the femur and the L4 +L5 were measured using dual energy x-ray absorptiometry (DXA). Microarchitectures of the proximal tibia metaphysis tissue were measured by using standard histomorphometric methods and with the motic software.

Findings: The endurance (p= 0.035) and resistance (p= 0.001) groups had significantly increased femur BMD compared to controls. L4+L5 BMD in resistance training and control was significantly greater than endurance group (p= 0.001, p= 0.001). only the resistance training had significantly increased the trabecular percent (p= 0.018) and cortical thickness (p= 0.009) and had significantly decreased trabecular separation percent (p= 0.02) compared to controls. A number of osteocyte in both endurance and resistance groups was significantly greater than that in control group (p= 0.03, p= 0.002).

Discussion & Conclusions: Resistance training induces more effective favourable changes in bone mineral status and pathology as compared to endurance training in osteoporotic male rats.

Keywords: Osteoporosi , Exercise training , Bone mineral density, Histomorphometry

1. Dept of Physical Education, Faculty of Physical Education Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Sistan and Baluchestan University, Zahedan, Iran

2. Dept of Sports Injury, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran

3. Dept of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

4. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran

* Correspondin author Email: banparvari@ped.usb.ac.ir