

تغییرپذیری ویژگی‌های ابعادی - ساختاری استخوانی موش‌های صحرایی نر ناشی از تمرین تناوبی با شدت بالا

سیروس چوبینه*^۱ - علیرضا قارداشی افوسی^۲

۱. دانشیار دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران ۲. دکتری تخصصی

فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۹/۰۷/۱۳۹۷، تاریخ تصویب: ۱۹/۱۰/۱۳۹۷)

چکیده

تمرین ورزشی با فعال‌سازی مکانیسم‌های هورمونی، مکانیکی و عضلانی به افزایش تراکم، قدرت و استحکام استخوان کمک می‌کند. هدف پژوهش حاضر بررسی تغییرات عوامل ویژگی‌های ابعادی-ساختاری پس از ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) است. تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی 50 ± 25.0 گرم و سن ۸ هفته به صورت تصادفی به دو گروه تجربی ($n=8$) و کنترل ($n=8$) تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت بالا ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max} و دوره‌های ریکاوری ۳ دقیقه‌ای با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max} بود که سه روز در هفته، یک ساعت و به مدت ۸ هفته اجرا شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، بعد از بی‌هوشی و کشتن حیوان، استخوان ران برداشته و در فرمالین قرار داده شد. ویژگی‌های ابعادی-ساختاری با استفاده از روش فوتومیکروسکوپ اندازه‌گیری شدند. از آزمون t -مستقل برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد ۸ هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر وزن ($P=0.001$) و طول استخوان ران ($P=0.001$) نداشت. در حالی که نسبت حجم استخوان به حجم استخوان اسفنجی ($P=0.004$)، ضخامت اپی‌فیز ($P=0.001$)، منافذ ($P=0.001$) و تعداد تراکولار ($P=0.002$) افزایش معناداری داشت. به علاوه، ضخامت استخوان بین دو گروه تجربی و کنترل افزایش معناداری نداشت ($P=0.207$). به نظر می‌رسد تمرین تناوبی با شدت بالا، احتمالاً با افزایش ضخامت استخوان تراکولار و اسفنجی می‌تواند بر قدرت و استحکام استخوان تأثیر بگذارد.

واژه‌های کلیدی

استخوان، تمرین تناوبی با شدت بالا، ویژگی‌های ابعادی-ساختاری.

مقدمه

کورتیکال ارتباط مستقیمی با قدرت استخوان دارد (۱۰). به‌طور کلی مشخص شده است که ۵۵ درصد قدرت استخوان به‌واسطه قطر خارجی استخوان‌های بلند تعیین می‌شود (۱۱). مداخله‌های تمرینی اغلب به تأثیر تمرین ورزشی بر تراکم استخوان می‌پردازند، درحالی‌که این مسئله ممکن است به کم‌بها دادن آثار فعالیت ورزشی بر قدرت استخوان منجر شود (۱۲، ۱۳). دستاوردهای کوچک در استخوان می‌تواند قدرت استخوان را تا حد زیادی بهبود بخشد، زیرا سلول‌های استخوانی جدید اغلب به سطح استخوان منتقل می‌شوند و فشار مکانیکی زیادی را تحمل می‌کنند (۱۴). به‌نظر می‌رسد تمرین ورزشی متحمل وزن، تمرین ورزشی با برخورد بالا و تمرین مقاومتی آثار مفیدی بر استخوان انسان و مدل‌های حیوانی دارد (۱۲). اگرچه تمرین ورزشی در مدل‌های حیوانی در حال رشد مؤثرتر است و به افزایش توده استخوانی در پیش از بلوغ و حیوانات بالغ می‌شود (۱۳)، نشان داده شده است در میانسالان و افراد سالمند نیز تمرین ورزشی بر ساختار و شکل هندسی استخوان و در نهایت قدرت استخوان تأثیر مناسبی دارد (۱۵).

آدامی^۲ و همکاران (۱۹۹۹) دریافتند که تمرین مقاومتی اندام فوقانی برای ساختار هندسی تحتانی استخوان زرد زبرین حتی در صورت عدم افزایش تراکم استخوان مفید است. این نتایج نشان می‌دهد استخوان‌ها استحکام ساختاری خود را به‌صورت ویژه‌ای تنظیم می‌کنند (۱۶). وارنر^۳ و همکاران (۲۰۰۶) دو مدل تمرینی با تحمل وزن (دویدن روی نوار گردان) و بدون تحمل وزن (شنا) را مقایسه کردند. نتایج آنها نشان داد نسبت حجم استخوان/حجم تراکولار استخوان (BV/TV)^۴ در گروه شنا افزایش معناداری داشت (۱۷). جو^۵ و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند

پوکی استخوان از بیماری‌های متابولیکی است که روزبه‌روز میزان شیوع آن افزایش می‌یابد. پوکی استخوان یک بیماری سیستمیک اسکلتی همراه با کاهش تراکم و زوال ساختار ریزبافت استخوان است که به کاهش قدرت و افزایش خطر شکستگی منجر می‌شود (۱). تراکم استخوان مهم‌ترین عامل تعیین‌کننده قدرت استخوان است. نشان داده شده است تراکم استخوان به‌تنهایی تقریباً ۶۰ تا ۸۰ درصد قدرت استخوان را پیش‌بینی می‌کند (۲). قدرت استراحت استخوان با ساختار هندسی، ساختار ریز تراکولار استخوان مشخص می‌شود (۱). اگرچه پوکی استخوان اغلب با عوامل ژنتیکی مشخص می‌شود، مطالعات نشان داده‌اند فعالیت ورزشی و تغذیه ممکن است در پیشگیری از پوکی استخوان کمک کنند.

آثار مثبت فعالیت ورزشی بر توده استخوان گزارش شده است. فعالیت ورزشی با افزایش تراکم مواد معدنی استخوان (BMD) و افزایش محتوای مواد معدنی (BMC) به سلامت استخوان کمک می‌کند (۳-۵). مطالعات آزمایشگاهی و بالینی نشان داده‌اند بارگذاری بر استخوان، برای مثال بارگذاری اسکلتی با شتاب زیاد و حرکات آهسته به‌ویژه در جهات متفاوت، موجب می‌شود نیروی لازم برای تحریک سلول‌های استخوانی فراهم شود (۶-۸). وینانیا و همکاران مقدار گزارش کردند که فعالیت ورزشی برای اعمال آثار استئوژنیک باید به آستانه برسد تا بتواند فعالیت سلول‌های استئوبلاست را افزایش دهد که به افزایش تراکم استخوان منجر شود (۹). رفتار مکانیکی^۱ استخوان به خواص مواد استخوانی و تا حد زیادی توزیع فضایی مواد استخوانی درون ساختار آن بستگی دارد. به‌علاوه، مشخص شده است که عوامل هندسی مانند قطر خارجی و ضخامت

4 . Bpme Volume/ Trabecular Bone Volume

5 . Joo

1 . Mechanical Behavior

2 . Adami

3 . Warner

برای بهینه‌سازی تشکیل استخوان مطالعه شده‌اند. در بسیاری از مدل‌های حیوانی، فعالیت‌هایی مانند تمرینات مقاومتی، دویدن روی نوار گردان، پریدن، سقوط آزاد و شنا بررسی شده است. فعالیت‌های ورزشی متحمل وزن مانند دویدن و پریدن توانایی استئوژنیک بالایی دارند (۲۱-۲۳). به‌طور کلی پذیرفته شده است که نیروی عضلانی هنگام فعالیت ورزشی مهم‌ترین عامل تعیین‌کننده ویژگی‌های مورفولوژیکی و مکانیکی استخوان است. فعالیت ورزشی از طریق عضله اسکلتی بارگذاری مکانیکی را ایجاد می‌کند که به‌وسیله استئوبلاست‌ها و استئوسیت‌ها حس می‌شوند و به افزایش تشکیل استخوان منجر می‌شود. برخی فعالیت‌های ورزشی بدون تأثیر بر بازجذب استخوانی موجب افزایش تشکیل استخوان می‌شود (۲۴). با این حال، تمرینات متحمل وزن موجب ایجاد تغییرات ساختاری در استخوان می‌شوند. این تغییرات می‌تواند ناشی از بارگذاری کل استخوان به‌جای بارگذاری نقطه‌ای عضلانی باشد (۲۵). فعالیت ورزشی متحمل وزن برای افزایش قدرت و تراکم استخوان آستانه دارد و هرگاه شدت فعالیت ورزشی به آن آستانه برسد، تغییرات افزایشی مشاهده خواهد شد. هنگامی که استخوان تحت بارگذاری مکانیکی قرار می‌گیرد، پاسخ انتقال مکانیکی-سلولی را در پی خواهد داشت. وجود تناوب در فعالیت ورزشی به احتمال زیاد سازگاری ساختاری ناشی از تأثیر عوامل هورمونی را ایجاد می‌کند. با توجه به اینکه مطالعات انجام‌گرفته بیشتر بر فعالیت‌های متحمل وزن و غیرمتحمل وزن صورت گرفته، مطالعه‌ای مبنی بر شدت فعالیت ورزشی انجام نگرفته است، از این‌رو هدف از پژوهش حاضر بررسی تغییرات ساختاری استخوان ناشی از بارگذاری زیاد تمرین تناوبی با شدت بالاست.

تمرین استقامتی می‌تواند موجب افزایش معنادار ضخامت تراپکولار^۱ (Tb.Th)، حجم بافت^۲ (TV)، حجم استخوان^۳ (BV) و نسبت BV/TV استخوان ران موش‌های صحرایی در حال رشد شود (۱). هامان^۴ و همکاران (۲۰۱۲) تغییرات عوامل ویژگی‌های ابعادی-ساختاری ناشی از دویدن با شیب منفی را بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد دویدن در سراسیبا با افزایش معنادار نسبت BV/TV، Tb.Th و تعداد تراپکولار^۵ (Tb.N) همراه است (۱۸).

تمرین شنا از مدل‌های اولیه تمرینی بود که بر تراکم استخوانی، متابولیسم و شاخص‌های ویژگی‌های ابعادی-ساختاری بررسی شد. اویی و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند انقباض‌های مکانیکی ناشی از شنا فشار مکانیکی لازم جهت تحریک تشکیل سلول‌های استخوانی را فراهم می‌کند (۱۹). به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد بین فعالیت ورزشی و قدرت و توده استخوانی ارتباط مقدار پاسخ وجود دارد. در همین زمینه ژانگ و همکاران (۲۰۱۷) رابطه شدت تمرین و قدرت استخوان را بررسی و گزارش کردند مکانیسم تأثیرگذار بر بازآرایی استخوان به‌دنبال شدت‌های مختلف معلوم نیست (۲۰).

تمرین تناوبی با شدت بالا^۶ (HIIT) به دوره‌هایی از فعالیت ورزشی گفته می‌شود که با نوساناتی در شدت فعالیت ورزشی در زمان معینی مشخص می‌شود. HIIT شامل تکرار دوره‌هایی از فعالیت با شدت بالا (نزدیک به بیشینه یا فوق بیشینه) است که با فعالیت ورزشی کم‌شدت یا با شدت متوسط مشخص می‌شود (۲۶). آثار مفید تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیماران قلبی-عروقی، رگ‌زایی، بیوزنر میتوکندریایی و سایر عوامل مشخص شده است. این شیوه تمرینی احتمالاً به‌دلیل وجود تناوب‌ها آثار متفاوتی نسبت به سایر تمرینات دارد. حالت‌های مختلف تمرین ورزشی

4 . Hamann
5 . Trabecular Number
6 . High-Intensity Interval Training

1 . Trabecular Thickness
2 . Tissue Volume
3 . Bone Volume

روش‌شناسی

آزمودنی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر ویستار (۲۵۰-۲۰۰ گرم، انستیتو پاستور ایران) استفاده شد. حیوانات در آزمایشگاه استاندارد جوندگان (چرخه ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی و میانگین درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد) با دسترسی آزادانه به آب و غذا در حیوان‌خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران نگهداری می‌شدند. در این مطالعه ۱۶ موش صحرایی به صورت تصادفی به دو گروه کنترل و تمرین HIIT تقسیم شدند.

آزمون ظرفیت ورزشی

دو روز قبل از شروع برنامه تمرینی و دو روز بعد از آخرین جلسه تمرینی در پایان هفته هشتم آزمون ظرفیت ورزشی اجرا شد. براساس مطالعه هویدال و همکاران، هر موش صحرایی ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه مرحله گرم کردن را سپری می‌کرد، سپس آزمون فزاینده ورزشی آغاز می‌شد. هر دو دقیقه سرعت ترمیم 0.3 متر بر ثانیه به صورت خودکار افزایش می‌یافت، تا زمانی که موش‌های صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نبودند. فاصله دویده شده توسط هر موش صحرایی به عنوان شاخص ظرفیت ورزشی در نظر گرفته شد. بعد از برآورد ظرفیت ورزشی و با توجه به فرمول $y = 162x - 1$ ، y represents VO_2 (ml/kg^{0.75} per min) and x , (running speed (m/s) VO_{2max} محاسبه شد. (۲۷).

برنامه تمرین ورزشی

برنامه تمرینی روی ترمیم طراحی شده ویژه حیوانات (Danesh Salar Iranian, Tehran, Iran)، ۳ روز در هفته به مدت یک ساعت بود که شامل ۶ دقیقه گرم کردن با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی

(VO_{2max}) و ۴۹ دقیقه دویدن تناوبی بود. هر تناوب شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت خیلی بالا (تقریباً ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max}) و ۳ دقیقه بازیافت فعال (تقریباً با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max}) بود. در پایان برنامه تمرینی با ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max} به انتها می‌رسید. در انتهای برنامه تمرینی ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max} قرار داشت. شدت تمرین در طی هفته‌ها براساس مطالعات گذشته و ارتباط بین سرعت دویدن و VO_{2max} تنظیم شد. بنابراین، شدت تمرینی در هر هفته 0.2 متر در ثانیه افزایش می‌یافت. (۲۷، ۲۶).

روش اندازه‌گیری

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین موش‌های صحرایی پس از ناشتایی شبانه نمونه‌برداری شدند. برای جمع‌آوری نمونه‌ها ابتدا حیوان با ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند، بعد از آن استخوان ران با ظرافت کامل بیرون آورده شد و به منظور تثبیت در محلول فرمالین قرار داده شد. طول و وزن استخوان ران قبل از سنجش‌های ویژگی‌های ابعادی- ساختاری اندازه‌گیری شد. سپس استخوان ران، به مدت ۳ هفته در محلول فرمالین ۱۰٪ تثبیت شد. سپس به روش فرمالدئید-اسید نیتریک به مدت ۲۴ ساعت کلسیم‌زدایی شدند. پس از مرحله کلسیم‌گیری، نمونه‌های استخوان در ناحیه بین قرقره قدامی ران به صورت عرضی برش داده شد. سپس درون دستگاه اتوتکنیکون جهت اجرای برنامه پاساژ بافتی قرار گرفتند. پس از اتمام کار دستگاه (۲۴ ساعت) نمونه‌ها از دستگاه خارج و با استفاده از قالب‌های لوکهارت با پارافین مایع قالب‌گیری شدند. پس از سرد شدن قالب‌های پارافینی، با استفاده از میکروتوم، برش‌های ۶

روش آماری

داده‌ها به صورت میانگین \pm SD بیان شدند. همه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS تحلیل شدند. از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. از آزمون t-مستقل برای بررسی اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد. سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

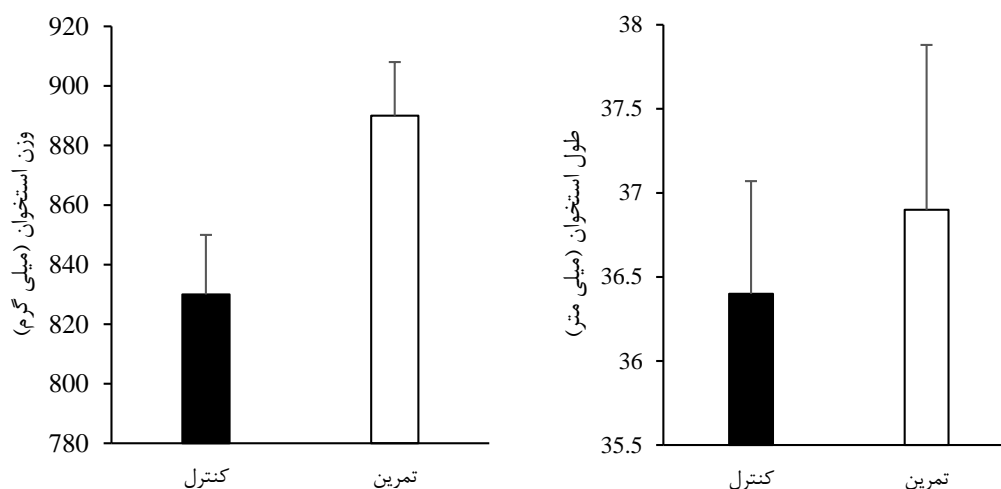
وزن بدن، طول و وزن استخوان ران

وزن بدن موش‌های صحرایی در شروع و همچنین در پایان مطالعه اندازه‌گیری شد. هرچند وزن دو گروه در پایان مطالعه افزایش داشت، بین دو گروه تغییرات معناداری نشان نداد (جدول ۱). وزن و طول استخوان ران بین دو گروه تفاوت معناداری نداشت (شکل ۱).

میکرومتری تهیه و آماده رنگ‌آمیزی شدند. تمامی مقاطع با استفاده از کیت رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون^۱ شرکت شیمی پژوهش آسیا رنگ‌آمیزی شدند. پس از رنگ‌آمیزی، پارامترهای مربوط به استخوان اسفنجی با استفاده از گردیکول مدرج خطی (Erma® Japan) برای هر مقطع اندازه‌گیری شد. پارامترهای تعیین نسبت حجم استخوان به حجم استخوان اسفنجی^۲ (BV/TV) و ضخامت استئوئید با استفاده از فوتومیکروسکوپ دیجیتال متصل به رایانه شخصی با نرم‌افزار زسیس آکسیو ورژن LE (Zeiss Axio Vision LE) سنجیده شد. برای هر نمونه، نسبت حجم تام استخوان به حجم استخوان اسفنجی در مقاطع فمور با ۶ تکرار سنجیده شد. به منظور تعیین نسبت حجم تام استخوان به حجم استخوان اسفنجی، مجموع مساحت‌های تراکول‌های موجود و ضخامت استئوئید در مستطیلی به ابعاد $500 \times 700 \mu\text{m}^2$ اندازه‌گیری و بر عدد ۳۵۰۰ تقسیم و به صورت درصد بیان شد (۲۸).

جدول ۱. میانگین وزن موش‌های صحرایی (گرم) قبل و بعد از تمرین

گروه	پیش‌آزمون	پس‌آزمون
کنترل	۱۳±۲۵۷	۲۱±۳۳۰
تمرین	۱۳±۲۴۷	۱۹±۳۰۴



نمودار ۱. مقادیر طول استخوان (میلی متر) و وزن استخوان ران (میلی گرم). مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد بیان شده است

ویژگی ابعادی-ساختاری

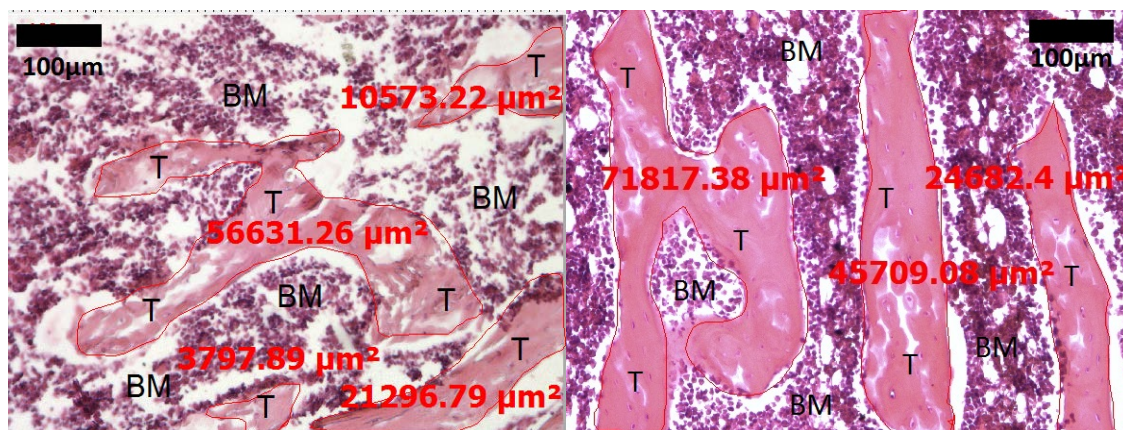
تعداد تراکولار در گروه تمرین پس از ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا افزایش یافت ($P=0/002$)، درحالی‌که ضخامت استوئید بعد از ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا تغییر معناداری نداشت ($P=0/207$). تصاویر رنگ‌آمیزی تری ماسون کروم در شکل ۲ نشان داده شده است.

مطابق نتایج جدول ۲، تمرین تناوبی با شدت بالا موجب افزایش معنادار BV/TV در گروه تجربی شد ($P=0/004$). ضخامت تراکولار اپی‌فیز و متافیز به‌دنبال ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا افزایش یافت ($P=0/001$).

جدول ۲. تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر ویژگی ابعادی-ساختاری استخوان ران

متغیر	گروه تجربی	گروه کنترل	سطح معناداری
حجم بافت / حجم استخوان	$34/95 \pm 3/70$ *	$24/63 \pm 6/68$	0/004
ضخامت استوئید (میکرومتر)	$1/31 \pm 0/22$	$1/19 \pm 0/12$	0/207
ضخامت اپی‌فیز (میکرومتر)	$81/30 \pm 11/35$ *	$59/85 \pm 6/80$	0/001
ضخامت متافیز (میکرومتر)	$73/70 \pm 7/89$ *	$53/42 \pm 4/82$	0/001
تعداد تراکولار (تعداد/میکرومتر مربع)	$6 \pm 0/25$ *	$5/37 \pm 0/37$	0/002

* $P < 0/05$ سطح معناداری بین گروه کنترل و تجربی



ب

الف

شکل ۲. رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون. الف) گروه تمرین ب) گروه کنترل. تیغه‌های استخوانی در شکل الف نسبت به ب مساحت بیشتری را در برگرفته‌اند به‌طوری‌که نشان می‌دهد تراکم سلول‌های اجدادی بسیار زیاد و به شکل پررنگ و متراکم‌تر نشان داده شده است. T تیغه استخوانی. BM مغز استخوان و سلول‌های اجدادی

اختلاف معناداری نداشت. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعه ایواموتو و همکاران (۱۹۹۹)، موری و همکاران (۲۰۰۱)، هاگیهارا و همکاران (۲۰۰۵)، لی و همکاران (۲۰۱۷) و بورین و همکاران (۲۰۱۷) همسو و با نتایج مطالعه وارنر و همکاران (۲۰۰۶)، هامان و همکاران (۲۰۱۲)، ایورا و همکاران (۲۰۱۵) و ژائو و همکاران

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا موجب افزایش معنادار نسبت حجم تام استخوان به حجم استخوان اسفنجی، ضخامت اپی‌فیز و متافیز و تعداد تراکولار استخوان ران شد. درحالی‌که ضخامت استوئید استخوان ران بعد از دوره تمرینی بین دو گروه

استخوان اسفنجی به دنبال تمرین تناوبی با شدت بالا افزایش یافته است. این شاخص منعکس‌کننده سهم ساختار تراپکولار به خواص مکانیکی استخوان اسفنجی و همچنین میزان تشکیل و بازجذب استخوان اسفنجی است. نسبت BV/TV نشان‌دهنده قدرت و استحکام استخوان است. افزایش نسبت BV/TV نشان از این دارد که ناحیه استخوانی فشرده در مقایسه با کل استخوان درصد بیشتری را به خود اختصاص داده و میزان بافت مغز استخوان و بافت‌های چربی استخوانی کمتر است. والاسه و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که حساسیت به فعالیت ورزشی تنها مربوط به استخوان نیست، بلکه جنسیت نیز در پاسخ به فعالیت ورزشی بسیار مهم است (۳۲). هامان و همکاران (۲۰۱۲) مطالعه خود را بر موش‌های صحرایی ماده نژاد اسپاراگودولی انجام دادند (۱۸). بنابراین قابل تصور است که انجام پروتکل با شدت متوسط در موش‌های صحرایی ماده نتوانسته است آستانه لازم برای تشکیل استخوان را تحریک کند. بنابراین می‌توان گفت علت تناقض بین نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش هامان ریشه در جنسیت موش‌های صحرایی دارد، زیرا موش‌های صحرایی نر حساسیت بیشتری به پاسخ تحریک مکانیکی دارند. آستانه تحریک تشکیل استخوان در موش‌های صحرایی نر پایین‌تر از موش‌های صحرایی ماده است (۳۲، ۱۸).

تمرین ورزشی با شدت متوسط (۱۲ متر در دقیقه، ۲ روز در هفته، ۳۰ دقیقه و به مدت ۶ هفته) در موش‌های صحرایی ترانسژنیک Bmpr1a موجب افزایش معنادار ضخامت تراپکولار، نسبت BV/TV و BMD شده است. در حالی که تمرین ورزشی در موش‌های صحرایی سالم تأثیر معناداری نداشت. از طرفی ائورا^۱ و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند خاصیت مکانیکی استخوان در مدل ترانسژنیک کنترل کاهش یافته است که ریشه در کاهش قطر فیبرهای

(۲۰۱۵) ناهمسو بود. به نظر می‌رسد محل اندازه‌گیری (استخوان ران، تیبیا و مهره‌ها)، شدت برنامه تمرینی، جنسیت، فعال‌سازی عضلات و طول دوره تمرینی از جمله دلایل مهمی است که تفاوت نتایج را نشان می‌دهد.

تحریک مکانیکی روزانه ناشی از تمرین ورزشی پاسخ استئوژنیک در استخوان را بهبود می‌بخشد (۱۸). در مطالعه‌های هاگیهارا و همکاران (۲۰۰۵)، نشان دادند تمرین با شدت بالا موجب افزایش تراکم استخوانی ران و درشتنی موش‌های صحرایی شد، در حالی که تراکم استخوان مهره‌های کمری تغییری نداشت (۳۰). به نظر می‌رسد استخوان مهره‌های کمری در پی تمرین ورزشی در مقایسه با استخوان ران و درشتنی کمتر در معرض تنش و فشار قرار می‌گیرند. بنابراین محل استخوان یکی از تفاوت‌های میان نتایج مطالعات به‌شمار می‌آید.

افزایش ضخامت اپی‌فیز و متافیز استخوان ران، احتمالاً ناشی از وجود تناوب و شدت بالای تمرین است که در واقع سازگاری با تنش و فشار عضلات فعال است. گزارش شده است که فشار اعمال‌شده ناشی از دویدن نسبت به راه رفتن و حتی فعالیت مقاومتی بیشتر است (۲۱). از آنجا که مهم‌ترین عامل تعیین‌کننده ویژگی‌های مورفولوژیکی و مکانیکی استخوان نیروی عضلانی و فشار عضله بر استخوان است، به نظر می‌رسد تمرینات تناوبی با شدت بالا موجب افزایش ضخامت اپی‌فیز و متافیز می‌شود.

ایواموتو و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که بارهای تمرینی زیاد (پردن) حساسیت بیشتری نسبت به بارهای تمرینی دویدن بر استخوان‌سازی دارند (۳۱). شدت تمرین از عوامل مهم افزایش تراکم استخوان به‌شمار می‌رود. به نظر می‌رسد افزایش تراکم استخوان بدون تغییر عوامل ویژگی‌های ابعادی و ساختاری نیز رخ می‌دهد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد نسبت حجم تام استخوان به حجم

سوئومینن^۱ و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند پس از ۳، ۴ و ۵ هفته تمرین دویدن روی تردمیل حجم استخوان و تعداد تراکولار را افزایش می‌دهد. آنها نشان دادند تنظیم مستمر پروتکل تمرینی (کنترل شدت تمرین) از عوامل تعیین‌کننده تأثیرگذاری تمرین ورزشی بر تراکم استخوان است (۳۵). موری^۲ و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند ضخامت ساب‌کندرال استخوان ران در پی تمرینات با شدت بالا افزایش می‌یابد (۳۶). بنابراین، به نظر می‌رسد یکی از سازوکارهای تأثیرگذار بر افزایش ضخامت استخوان ران ریشه در شدت تمرینی دارد.

وارنر و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند نسبت BV/TV در گروه شنا در مقایسه با گروه دویدن افزایش معناداری داشته است. افزایش BV/TV با افزایش ضخامت، تعداد و کاهش فضای تراکولار مشخص می‌شود. به نظر می‌رسد کشش ناشی از انقباض عضلات - به‌عنوان مهم‌ترین عامل افزایش قدرت استخوانی - از جمله مهم‌ترین علت افزایش نسبت BV/TV بوده است. در پی یکسان‌سازی فرکانس بار مشخص شده است که تمرین شنا در مقایسه با دویدن اثر مثبت‌تری اعمال می‌کند. تماس پا با زمین و انقباض عضله مهم‌ترین عوامل تحریک مکانیکی استخوان‌سازی هستند. فعالیت عضلات در هنگام شنا با استفاده از الکترومیوگرافی بررسی و مشخص شد مقاومت آب نیازمند فعالیت بیشتر عضلات است و از این رو افزایش نسبت BV/TV در گروه شنا معنادار بوده است (۱۷). بنابراین فعالیت توده عضلانی از عوامل مؤثر در افزایش تراکم استخوانی و افزایش شاخص‌های ابعادی و ساختاری است. تمرین تناوبی با شدت بالا نیروی گرانشی بیشتری در مقایسه با راه رفتن، دویدن با شدت متوسط و حتی تمرینات مقاومتی اعمال می‌کند (۳۷). تناوب‌های با نوسانات بالا و پایین شدت نیروی واکنشی مفصل و نیروی واکنشی زمین را به‌همراه خواهد

کلاژنی دارد. در پی تمرین ورزشی ضخامت فیبرهای کلاژنی افزایش یافت و به‌نظر می‌رسد به افزایش خاصیت مکانیکی استخوان کمک می‌کند. همچنین مشخص شد که فعالیت سلول‌های استئوسیت و استئوبلاست در استخوان درشت‌نی موش‌های ترانسژنیک در مقایسه با موش‌های سالم کاهش یافته است که تمرین ورزشی موجب افزایش بیشتر استئوسیت‌ها و استئوبلاست‌ها در مدل ترانسژنیک شد (۳۳). به‌نظر می‌رسد افزایش خون‌رسانی (آنژیوژنز و رگ‌گشایی) از سازوکارهای مهمی است که به بهبود تراکم استخوان کمک می‌کند. در این زمینه لی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند بین آنژیوژنز و افزایش تراکم استخوان ارتباط مستقیمی وجود دارد. آنها نشان دادند تمرین ورزشی (پیشرفت برنامه تمرینی از ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه در هفته اول به ۴۵ دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه و ۵ روز در هفته) در مدل استئوپروز موجب افزایش معنادار ضخامت تراکولار، افزایش تعداد تراکولار و نسبت حجم تام استخوان به حجم استخوان اسفنجی ران شد. به‌علاوه، نشان دادند قطر عروق ران در گروه استئوپروز با تمرین ورزشی به‌مراتب بیشتر از گروه سالم با تمرین ورزشی افزایش یافته است. بیان eNOS mRNA در گروه استئوپروز با تمرین ورزشی و گروه سالم با تمرین ورزشی افزایش معناداری در مقایسه با گروه‌های کنترل مشابه داشتند. به‌نظر می‌رسد با افزایش فعالیت eNOS و افزایش فعالیت زیستی نیتریک اکساید، خون‌رسانی به استئوسیت‌ها و استئوبلاست‌ها افزایش می‌یابد. به‌علاوه، فعالیت ورزشی از راه مهار تنظیم‌کننده‌های منفی استئوکلاست‌ها همانند اینترلوکین-۶ و سیکلواکسیژناز-۲ به کاهش بازجذب استخوان و افزایش استئوژنز کمک می‌کند (۳۴).

عضلانی است که در نهایت با استفاده از آن میزان تأثیرپذیری عوامل ابعادی و ساختاری استخوان در پی فعالیت عضلانی تمرینات تناوبی با شدت بالا تعیین می‌شد. دوم، خون‌رسانی به بافت استخوان یکی از راهکارهای افزایش تراکم استخوانی و بهتر شدن ویژگی‌های ابعادی و ساختاری است. در این پژوهش مشخص نشد آیا تمرین تناوبی با شدت بالا می‌تواند از راه افزایش آنژیوژنز در بافت استخوان به بهتر شدن ویژگی‌های ابعادی و ساختاری کمک کند یا خیر.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرین تناوبی با شدت بالا موجب افزایش ضخامت تراکولار، استوئید و تعداد تراکولار استخوان ران موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار شده است. به نظر می‌رسد از برنامه تمرین تناوبی با شدت بالا بتوان به‌عنوان یکی از راهبردهای مهم در پیشگیری و جلوگیری از توسعه کاهش تراکم استخوان بهره گرفت.

تقدیر و تشکر

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی شماره ۲۶۹۷۲/۱/۳ با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه تهران انجام گرفته است.

داشت. به‌نظر می‌رسد افزایش نیروی واکنشی مفصل و زمین در پی تمرین با شدت بالا یکی از سازوکارهای دیگر در جهت افزایش شاخص‌های ابعادی و ساختاری است.

ژائو^۱ و همکاران (۲۰۱۵)، با بررسی ۶ هفته تمرین مقاومتی بر موش‌های صحرایی اسپاراگودولی بالغ نشان دادند ضخامت استوئید افزایش معنادار داشت. استوئید به‌عنوان شاخص استخوان‌سازی در نظر گرفته می‌شود. مشخص شده است تمرین مقاومتی آثار مطلوبی بر تشکیل استخوان دارد (۳۹). نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرین تناوبی با شدت بالا تأثیر معناداری بر ضخامت استوئید ندارد. به‌نظر می‌رسد نوع پروتکل تمرینی نقش مهمی در ضخامت استوئید دارد. از طرفی به‌نظر می‌رسد طول دوره تمرین نیز از علل مهم و مؤثر در ضخامت استوئید است. برای تشکیل استخوان به مدت زمان زیادی احتیاج است (۱۸). طول دوره تمرین پژوهش حاضر ۸ هفته بود. به‌نظر می‌رسد این دوره تمرینی برای افزایش ضخامت استوئید کافی نبوده است.

پژوهش حاضر محدودیت‌هایی داشت؛ نخست، در این پژوهش نتوانستیم میزان فعالیت عضلات را با استفاده از الکترومیوگرافی بسنجیم. به‌نظر می‌رسد میزان فعال شدن واحدهای حرکتی عامل مهمی در تعیین میزان فعالیت

منابع و مأخذ

1. 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(4):485-493.
2. Yu HS, Kim JJ, Kim HW, Lewis MP, Wall I. Impact of mechanical stretch on the cell behaviors of bone and surrounding tissues. *Journal of Tissue Engineering*. 2015;6:2041731415618342.
3. Kohrt WM, Ehsani AA, Birge SJ, Jr. Effects of exercise involving predominantly either joint-reaction or ground-reaction forces on bone mineral density in older women. *Journal of Bone Mineral Research*. 1997;12(8):1253-1261.
4. Wen HJ, Huang TH, Li TL, Chong PN, Ang BS. Effects of short-term step aerobics exercise on bone metabolism and functional fitness in postmenopausal women with low bone mass. *Osteoporosis International*. 2017;28(2):539-547.

5. Gregov C, Šalaj S. The Effects of Different training modalities on bone mass: a Review. *Kinesiology: International journal of fundamental and applied kinesiology*. 2014;46(Supplement 1):10-29.
6. Hsieh YF, Robling AG, Ambrosius WT, Burr DB, Turner CH. Mechanical loading of diaphyseal bone in vivo: the strain threshold for an osteogenic response varies with location. *Journal of Bone Mineral Research*. 2001;16(12):2291-2297.
7. Milgrom C, Finestone A, Levi Y, Simkin A, Ekenman I, Mendelson S, et al. Do high impact exercises produce higher tibial strains than running? *British journal of sports medicine*. 2000;34(3):195-199.
8. Milgrom C, Miligram M, Simkin A, Burr D, Ekenman I, Finestone A. A home exercise program for tibial bone strengthening based on in vivo strain measurements. *American journal of physical medicine & rehabilitation / Association of Academic Physiatrists*. 2001;80(6):433-438.
9. Vainionpaa A, Korpelainen R, Vihriala E, Rinta-Paavola A, Leppaluoto J, Jamsa T. Intensity of exercise is associated with bone density change in premenopausal women. *Osteoporos International*. 2006;17(3):455-463.
10. Turner CH. Biomechanics of bone: determinants of skeletal fragility and bone quality. *Osteoporos International*. 2002;13(2):97-104.
11. Bouxsein ML, Seeman E. Quantifying the material and structural determinants of bone strength. *Best Practice & Research: Clinical Rheumatology*. 2009;23(6):741-753.
12. Lertsinthal P, Charoenphandhu J, Suntornsaratoon P, Krishnamra N, Charoenphandhu N. Voluntary wheel running mitigates the stress-induced bone loss in ovariectomized rats. *Journal of Bone Mineral Metabolism*. 2015;33(3):261-269.
13. Behringer M, Gruetzner S, McCourt M, Mester J. Effects of weight-bearing activities on bone mineral content and density in children and adolescents: a meta-analysis. *Journal of Bone Mineral Research*. 2014;29(2):467-478.
14. Turner CH, Robling AG. Exercises for improving bone strength. *British journal of sports medicine*. 2005;39(4):188-189.
15. Tan VP, Macdonald HM, Kim S, Nettlefold L, Gabel L, Ashe MC, et al. Influence of physical activity on bone strength in children and adolescents: a systematic review and narrative synthesis. *Journal of Bone Mineral Research*. 2014;29(10):2161-2181.
16. Adami S, Gatti D, Braga V, Bianchini D, Rossini M. Site-specific effects of strength training on bone structure and geometry of ultradistal radius in postmenopausal women. *Journal of Bone Mineral Research*. 1999;14(1):120-124.
17. Warner SE, Shea JE, Miller SC, Shaw JM. Adaptations in cortical and trabecular bone in response to mechanical loading with and without weight bearing. *Calcification Tissue International*. 2006;79(6):395-403.
18. Hamann N, Kohler T, Muller R, Bruggemann GP, Niehoff A. The effect of level and downhill running on cortical and trabecular bone in growing rats. *Calcification Tissue International*. 2012;90(5):429-437.
19. Ooi FK, Norsyam WM, Ghosh AK, Sulaiman SA, Chen CK, Hung L-k. Effects of short-term swimming exercise on bone mineral density, geometry, and microstructural properties in sham and ovariectomized rats. *Journal of Exercise Science & Fitness*. 2014;12(2):80-7.

20. Zhang L, Chen X, Wu J, Yuan Y, Guo J, Biswas S, et al. The effects of different intensities of exercise and active vitamin D on mouse bone mass and bone strength. *Journal of Bone Mineral Metabolism*. 2017;35(3):265-277.
21. Notomi T, Okazaki Y, Okimoto N, Saitoh S, Nakamura T, Suzuki M. A comparison of resistance and aerobic training for mass, strength and turnover of bone in growing rats. *European journal of applied physiology*. 2000;83(6):469-74.
22. Shimano RC, Yanagihara GR, Macedo AP, Yamanaka JS, Shimano AC, Tavares J, et al. Effects of high-impact exercise on the physical properties of bones of ovariectomized rats fed to a high-protein diet. *Scandinavian Journal of Medicin Science Sports*. 2018;28(5):1523-1531.
23. Welch JM, Weaver CM, Turner CH. Adaptations to free-fall impact are different in the shafts and bone ends of rat forelimbs. *Journal of applied physiology*. 2004;97(5):1859-1865.
24. Birkhold AI, Razi H, Duda GN, Weinkamer R, Checa S, Willie BM. Mineralizing surface is the main target of mechanical stimulation independent of age: 3D dynamic in vivo morphometry. *Bone*. 2014;66:15-25.
25. Schroeder ET, Hawkins SA, Jaque SV. Musculoskeletal adaptations to 16 weeks of eccentric progressive resistance training in young women. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2004;18(2):227-235.
26. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MO, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovascular research*. 2009;81(4):723-732.
27. Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*. 2007;14(6):753-760.
28. Hanson NA, Bagi CM. Alternative approach to assessment of bone quality using micro-computed tomography. *Bone*. 2004;35(1):326-333.
29. Huang TH, Hsieh SS, Liu SH, Chang FL, Lin SC, Yang RS. Swimming training increases the post-yield energy of bone in young male rats. *Calcification Tissue International*. 2010;86(2):142-153.
30. Hagihara Y, Fukuda S, Goto S, Iida H, Yamazaki M, Moriya H. How many days per week should rats undergo running exercise to increase BMD? *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2005; 23(4): 289-294.
31. Iwamoto J, Yeh JK, Aloia JF. Differential effect of treadmill exercise on three cancellous bone sites in the young growing rat. *Bone*. 1999;24(3):163-169.
32. Wallace JM, Rajachar RM, Allen MR, Bloomfield SA, Robey PG, Young MF, et al. Exercise-induced changes in the cortical bone of growing mice are bone- and gender-specific. *Bone*. 2007;40(4):1120-1127.
33. Iura A, McNerny EG, Zhang Y, Kamiya N, Tantillo M, Lynch M, et al. Mechanical loading synergistically increases trabecular bone volume and improves mechanical properties in the mouse when BMP signaling is specifically ablated in osteoblasts. *PloS One*. 2015;10(10):e0141345.
34. Li W, Zhang Y, Xu X, Wang K, Ding W. Relationship between osteogenesis and angiogenesis in ovariectomized osteoporotic rats after exercise training. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2017;10(12):11438-11449.

35. Suominen TH, Korhonen MT, Alen M, Heinonen A, Mero A, Tormakangas T, et al. Effects of a 20-week high-intensity strength and sprint training program on tibial bone structure and strength in middle-aged and older male sprint athletes: a randomized controlled trial. *Osteoporos International*. 2017;28(9):2663-2673.
36. Murray RC, Vedi S, Birch HL, Lakhani KH, Goodship AE. Subchondral bone thickness, hardness and remodelling are influenced by short-term exercise in a site-specific manner. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2001;19(6):1035-1042.
37. Oh T, Tanaka S, Naka T, Igawa S. Effects of high-intensity swimming training on the bones of ovariectomized rats. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*. 2016; 20(3):39.
38. Zhao R, Zhao M, Xu Z. The effects of differing resistance training modes on the preservation of bone mineral density in postmenopausal women: a meta-analysis. *Osteoporos International*. 2015;26(5):1605-1618.

Variability in Bone Histomorphometric Parameters of Male Rats Induced by High Intensity Interval Training

Siroos Choobineh^{1*} - Alireza Ghardashi Afousi²

1. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 2. PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received: 2018/10/11; Accepted: 2019/01/09)

Abstract

Training helps increase bone mass density, strength and rigidity by the activation of hormonal, mechanical and muscular mechanisms. The aim of this study was to investigate the changes of histomorphometric parameters after 8 weeks of high intensity interval training (HIIT). 16 male Wistar rats (mean weight 250 ± 50 g and 8 weeks of age) were randomly divided into control (n=8) and experimental groups (n=8). The training protocol consisted of 4 minutes of running with high intensity at 85-90% VO_{2max} and 3 minutes of recovery with the intensity of 50-60% VO_{2max} , which was performed 3 days per week, 1 hour for 8 weeks. 24 hours after the last training session, animals were anesthetized and sacrificed; then their femur was removed and fixed in formalin. Histomorphometric parameters were measured using a photomicroscope. Independent t test was used to analyze the data with a significance level of $P < 0.05$. The results indicated that 8 weeks of HIIT had no significant effect on bone weight ($P=0.270$) and length ($P=0.290$). However, bone volume/trabecular bone volume ratio ($P=0.004$), thickness of ephyphysis ($P=0.001$), thickness of metaphysis ($P=0.001$) and trabecular number ($P=0.002$) significantly increased. Additionally, osteoid thickness did not significantly increased between experimental and control groups ($P=0.207$). It seems that high intensity interval training may affect bone strength and rigidity through increased trabecular and cancellous bone thickness.

Keywords

Bone, high intensity interval training, histomorphometry.

* Corresponding Author: Email: choobineh@ut.ac.ir, Tel: 09124572058