DOI: 10.48305/jims.v41.i734.0764

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و یکم/شماره‌ی ۷۳٤/هفته‌ی دوم آبان ۱٤۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۱۴ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۲ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۸/۱۴

مقایسه‌ی اثر تمرین مقاومتی– استقامتی بر تعداد سلول‌های استئوسیت، استئوبلاست و استئوکلاست بافت استخوان فمور در موش‌های نر بالغ، کودک و سالمند

مهشید شیری[۱]، محمدرضا فدائی چافی[۲]، شهرام غلامرضایی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اگرچه تمرین ورزشی به عنوان یک عامل مؤثر در حفظ و بهبود استحکام استخوان شناخته شده است؛ اما مشخص نیست که آثار آن بر سلول‌های استخوان‌ساز و استخوان‌خوار رده‌های سنی مختلف یکسان باشد. بنابراین هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرین مقاومتی– استقامتی بر تعداد سلول‌های استئوسیت، استئوبلاست و استئوکلاست بافت استخوان فمور در موش‌های نر با سنین مختلف بود.

روش‌ها: در مطالعه‌ی حاضر، ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در سه گروه سنی ۲ هفته‌ای، ۶ هفته‌ای و۹۶ هفته‌ای به صورت تصادفی در ۲ گروه ۵تایی تمرین و شاهد قرار گرفتند. تمرینات مقاومتی– استقامتی برای ۶ جلسه تمرین در هفته به مدت ۶ هفته اجرا شد. موش‌ها تحت گاز دی‌اکسید کربن قربانی شدند. جهت بررسی میکروسکوپی بافتی از رنگ‌آمیزی به روش H&E استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج آنالیز واریانس یک طرفه با آزمون تعقیبی Tukey نشان داد، مقادیر بالاتر سلول‌های استئوبلاست و استئوسیت و مقادیر پایین‌تر سلول‌های استئوکلاست موش‌های تمرین کرده در هر سه رده‌ی سنی در مقایسه با گروه شاهد خودشان، معنی‌دار بود. مقایسه‌ی گروه‌های تمرین با یکدیگر نشان داد، تعداد استئوبلاست‌ها در گروه‌های کودک و بالغ، تعداد استئوسیت‌ها در گروه بالغ و تعداد استئوکلاست‌ها در گروه‌های بالغ و سالمند بالاتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد تمرین مقاومتی– استقامتی منجر به افزایش سلول‌های استخوان‌ساز و کاهش سلول‌های استخوان‌خوار شد. هرچند آثار ورزش بر استخوان‌سازی در رده‌های سنی پایین‌تر بیشتر از دوران سالمندی بود. با این وجود ممانعت ورزش از روند استخوان‌خواری در سنین بالاتر خصوصاً دوره‌ی سالمندی مشهود بود.

واژگان کلیدی: تمرینات قدرتی؛ تمرینات هوازی؛ استئوسیت؛ استئوبلاست؛ استئوکلاست

ارجاع: شیری مهشید، فدائی چافی محمدرضا، غلامرضایی شهرام. **مقایسه‌ی اثر تمرین مقاومتی– استقامتی بر تعداد سلول‌های استئوسیت، استئوبلاست و استئوکلاست بافت استخوان فمور در موش‌های نر بالغ، کودک و سالمند.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۳۴): ۷۶۴-۷۷۲

مقدمه

استخوان، بافتی فعال می‌باشد و برای داشتن عملکرد طبیعی، نیازمند دریافت بار مکانیکی است که یکی از مهم‌ترین عوامل برای افزایش توده‌ی استخوانی می‌باشد و سبب تحریک سلول‌های استخوان‌ساز شده که در نهایت موجب تقویت استخوان می‌شود (۱). استحکام استخوان با تراکم مواد معدنی و تعداد سلول‌های استخوانی تعریف می‌شود. بافت‌های استخوانی به وسیله‌ی بازسازی استخوان با استئوکلاست‌های جذب‌کننده‌ی استخوان، استئوبلاست‌های استخوان‌ساز و استئوسیت‌های مخفی در ماتریکس حفظ می‌شوند. با این حال، اختلال در این عملکردهای سلولی ناشی از عوامل ژنتیکی و یا محیطی مختلف یا بیماری‌های سیستمیک ممکن است بر استحکام استخوان تأثیر بگذارد (۲). استئوسیت‌ها با ایجاد بار مکانیکی و انتقال آن به استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها، سبب بازسازی بافت اسکلتی و تنظیم هموستاز می‌شوند.

از آن‌جایی که بار مکانیکی عامل مهمی در حفظ تعداد استخوان است، مطالعات بسیاری تأثیر برنامه‌های ورزشی مختلف بر تعداد

۱- دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۲- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۳- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: محمدرضا فدائی چافی: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

Email: mfadaei2000@yahoo.com

استخوان و ویژگی‌های ساختاری آن را بررسی کرده‌اند (۳، ۴). بار مکانیکی روی استخوان مجموعه‌ای از مسیرهای سیگنالینگ را در سلول استخوانی فعال می‌کند که رسوب مواد معدنی در استخوان را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش تعداد سلول‌های استخوانی و در نتیجه حفظ استحکام آن می‌شود (۵). در واقع، بار مکانیکی حاصل از ورزش استئوبلاست‌ها را فعال و استئوکلاست‌ها را غیرفعال می‌کند (۶) که منجر به تحریک برخی از نشانگرهای استخوان‌زایی و تکثیر استئوبلاست‌ها می‌شود. در مقابل؛ کم تحرکی، پیری، بیماری‌های متابولیکی استخوان، باعث عدم تعادل در بازسازی استخوان، کاهش فعالیت استئوبلاست‌ها و افزایش عملکرد استئوکلاست‌ها می‌شود (۷).

بررسی‌ها نشان داده‌اند که فعالیت بدنی منظم با مدت‌طولانی و شدت متوسط، باعث کاهش تحلیل استخوان وافزایش توده‌ی استخوانی در افراد سالم و پاتولوژیک می‌شود. در این خصوص یک مطالعه نشان داد، زنان یائسه‌ی غیرفعال با دوزهای بالای ورزش، تراکم توده‌ی استخوانی بیشتری در مقایسه با زنان با دوز متوسط ورزش داشتند (۸). علاوه بر این، گزارشی بر نمونه‌های انسانی نشان داد، ورزش، تأثیر مثبتی بر ویژگی‌های ساختاری و مکانیکی دستگاه اسکلتی و استحکام استخوان‌ها در دوران رشد، حفظ منابع معدنی و کاهش تخریب آن در سنین کهنسالی دارد (۹).

به طورکلی تصور می‌شود که استخوان ترجیحاً به محرک‌های مکانیکی به روشی وابسته به شدت پاسخ می‌دهد (۱۰). بارهای مکانیکی بالا و همچنین بارگذاری مکرر مانند تمرینات مقاومتی یا تمرینات با وزنه، طناب زدن، دویدن، پیاده‌روی و بالا رفتن از پله‌ها باعث افزایش غلظت شاخص‌های مکانیکی، متابولیکی، هورمونی می‌شود درحالی که فعالیت‌هایی که فشار کمتری بر استخوان وارد می‌کنند، حتی اگر برای مدت طولانی اعمال شوند، تأثیر ناچیزی بر توده‌ی استخوان دارند (۱۱–۱۳). بنابراین با توجه به ماهیت این تمرینات به نظر می‌رسد ترکیب این ورزش‌های بتواند اثرات مؤثری بر تعداد استخوان داشته باشد. در این رابطه، مطالعات نشان دادند که ۱۶ هفته تمرین قدرتی از طریق فرایندهای تعدیل‌کننده مانند تحریک سلول‌های تمایز استئوبلاست منجر به تغییرات مثبت در پارامترهای بیومکانیکی استخوان شده است (۱۴). علاوه بر این نشان داده شد که تمرینات مقاومتی باعث افزایش تشکیل استخوان و بهبود ساختار استخوان در انسان و نمونه‌ی حیوانی شده است (۱۵، ۱۶). در مطالعه‌ای که بر روی نمونه‌های حیوانی انجام شد، نشان داد تمرین مقاومتی سبب افزایش تراکم بافت استخوانی رت‌های نر بالغ شده است (۱۷). علاوه بر این، هیچ اثر متقابل معنی‌داری بین رژیم غذایی و ورزش هوازی بر بسیاری از پارامترهای استخوانی شامل تعداد استخوان و محتوای معدنی در موش‌های سالمند وجود نداشت (۱۸).

در مقابل، تمرین مقاومتی با شدت کم و حجم زیاد بر تراکم و تعادل استخوان در زنان یائسه تأثیری بر تعداد استخوان فمور و ساعد پس از شش ماه نداشت (۱۹). در مطالعه‌ای مشخص شد که تمرینات استقامتی و مقاومتی با شدت بالا نسبت به تمرینات با شدت کم تا متوسط برای بهبود متابولیسم استخوان کارآمدتر هستند (۲۰، ۲۱).

بر پایه‌ی پژوهش‌های قبلی، ترکیبی از تمرینات ورزشی از جمله مقاومتی و استقامتی به دلیل فشار مکانیکی بالا و بارگذاری مکرر در بهبود سلامت بافت اسکلتی و سلامت استخوان نقش تعیین‌کننده‌ای دارد و می‌تواند هزینه‌های محتمل اجتماعی و بهداشتی را کاهش دهد (۱۲، ۲۲). علاوه بر این، نوع، شدت و مدت ورزش ممکن است بر تعداد و عملکرد استئوبلاست به مداخلات ورزشی تأثیر بگذارد (۲۳). بنابراین، ما فرض کردیم که تمرین مقاومتی در کنار تمرین استقامتی، اثرات مفیدی بر کیفیت استخوان دارد. از طرفی، تأثیر انجام تمرینات استقامتی– مقاومتی بر بافت اسکلتی در مطالعات مختلفی بررسی شده است اما مقایسه‌ی اثر تمرین در سه رده‌ی سنی در تحقیقات، کمتر مورد توجه قرار گرفته و اینکه فعالیت ورزشی در کدام گروه سنی تأثیر بیشتری بر بافت استخوانی دارد، سؤالی است که به دنبال پاسخ به آن هستیم. بنابراین مطالعه‌ی حاضر به مقایسه‌ی اثر تمرین مقاومتی– استقامتی بر تراکم سلول‌های استئوبلاست، استئوسیت و استئوکلاست بافت استخوان فمور در موش‌های نر بالغ، کودک و سالمند با سنین مختلف پرداخت.

روش‌ها

در این پژوهش، ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سه گروه سنی ۲ هفته‌ای با میانگین وزنی ۱۰۰ تا ۱۵۰ گرم، ۱۰ نمونه با طول عمر ۶ هفته با میانگین وزنی ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم، ۱۰ نمونه با طول عمر ۹۶ هفته با میانگین وزنی ۲۸۰ تا ۳۲۰ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند و پس از انتقال موش‌های صحرایی به آزمایشگاه بافت و ژن پاسارگارد، حیوانات در شرایط کنترل شده با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر)، دما (۳ ± ۲۲ سانتی‌گراد)، و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. در هر قفس تعداد ۵ موش صحرایی به گونه‌ای که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند، نگهداری شدند. کلیه‌ی اصول اخلاقی پژوهش حاضر بر اساس ضوابط کمیته‌ی اخلاقی حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت با کد اخلاق IR.IAU.RASHT.REC.1401.006 انجام شد.

موش‌ها پس از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه به صورت تصادفی در ۲ گروه ۵تایی در هر رده‌ی سنی به ترتیب زیر: ۱– گروه «کنترل دوران کودک» شامل ۵ موش صحرایی سالم سن ۲ هفته‌ای؛

۲- گروه «تمرین کرده دوران کودک» شامل ۵ موش صحرایی سالم با سن ۲ هفته‌ای؛ ۳- گروه «کنترل دوران بالغی» شامل ۵ موش صحرایی سالم و سن ۶ هفته‌ای؛ ۴- گروه «تمرین کرده دوران بالغی» شامل ۵ موش صحرایی سالم با سن ۶ هفته‌ای؛ ۵- گروه «کنترل دوران سالمند» شامل ۵ موش صحرایی سالم با سن ۹۶ هفته‌ای و ۶- گروه «تمرین کرده دوران سالمند» شامل ۵ موش صحرایی سالم با سن ۹۶ هفته‌ای تقسیم شد و مورد مطالعه قرار گرفتند.

برنامه‌ی تمرین ترکیبی (تمرین مقاومتی- استقامتی): نحوه‌ی اجرای تمرینات مقاومتی بدین صورت بود که ابتدا موش‌های گروه تمرین به مدت یک هفته با بالا رفتن از نردبان آشنا شدند. تمرینات مقاومتی به مدت ۶ هفته شامل ۳ جلسه تمرین در هفته بود که در ۳ نوبت و هر نوبت شامل ۴ بار بالا رفتن از نردبان مخصوص به ارتفاع یک متر و بیست و شش پله انجام شد که پله‌ها با فاصله‌ی ۴ سانتی‌متر از هم قرار داشتند. بین هر نوبت، ۳۰ ثانیه استراحت برای حیوانات در نظر گرفته شد. پس از بستن وزنه به دم حیوانات، وادار به صعود از نردبان عمودی شدند. در هفته‌ی اول میزان وزنه بسته شده به دم حیوان، ۳۰ درصد وزن بدن آن‌ها بود و به تدریج از هفته‌ی دوم، ۷۰ درصد، هفته‌ی سوم، ۱۰۰ درصد، هفته‌ی چهارم، ۱۲۰ درصد وزن بدن آن‌ها بود و تا پایان هفته‌ی ششم این بار تمرینی ثابت ماند (۲۴).

در خصوص تمرینات هوازی قبل از شروع، در ابتدا نمونه‌ها به مدت ۳ روز تحت برنامه‌ی آشنایی با نحوه‌ی فعالیت روی تردمیل قرار گرفتند. تمرینات برای ۳ جلسه در هفته و در روزهای متناوب با تمرینات مقاومتی و به مدت ۶ هفته انجام شد. شدت تمرین در هفته‌ی اول معادل ۲۵ درصد حداکثر سرعت شروع بود که به تدریج در هفته‌ی ششم به ۵۰ درصد حداکثر رسید. مدت زمان تمرین در هر جلسه تمرینی ۳۰ دقیقه بود (۲۵).

رنگ‌آمیزی به روش H&E ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله، تمامی موش‌ها تحت گاز دی‌اکسید کربن قربانی شدند. به جهت بررسی میکروسکوپی بافتی لازم است از تمایز کردن سلول‌ها و اجزاء و همچنین عناصر موجود در بافت از لحاظ نوری به‌وسیله‌ی تغییر رنگ در آن‌ها استفاده شود. به این منظور بافت‌ها در معرض موادی که رنگ به بافت می‌دهند بدون اینکه ذرات رنگ به طور مستقیم دیده شود، قرار گرفت. روش رنگ‌آمیزی که به صورت معمولی و تعارف انجام می‌شود، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین می‌باشد. روش انجام کار بدین صورت بود که پس از برداشت بافت مورد نظر با استفاده از حلول بوئن یا فرمالین ۱۰ درصد، ثابت‌سازی انجام شد. سپس در مرحله‌ی آماده‌سازی بافت، آبگیری، شفاف‌سازی، آغشتگی، در این مرحله نمونه را در داخل پارافین مذاب قرار می‌دهند. تا به داخل بافت نفوذ کند. پارافین در دمای اتاق جامد و در حرارت ۷۰ درجه به صورت مذاب درمی‌آید. تا این مرحله از آماده‌سازی بافت، هم به طور دستی در فور یا Oven و هم به‌طور اتوماتیک توسط دستگاهی به نام اتوتکنیکون امکان‌پذیر است. قلب‌گیری و برش‌گیری با نمونه‌ی همراه با قالب پارافین توسط دستگاهی به نام میکروتوم به ضخامت ۵ تا ۱۰ میکرون، برش داده شد. جمعیت سلول‌های استخوانی شامل استئوبلاست، استئوسیت و استئوکلاست بود.

در این روش از رنگ هماتوکسیلین به صورت محلول برای رنگ‌آمیزی هسته و از ائوزین قسمت‌های دیگر بافت استفاده شد. جهت ساختن رنگ هماتوکسیلین از پودر هماتوکسیلین ۵ گرم، پودر آلن دوپتاس ۱۰۰ گرم، الکل ۹۶ درجه ۵۰ میلی‌لیتر، پودر اکسید مرکوریک ۲/۵ گرم، آب مقطر ۱۰۰۰ میلی‌لیتر و اسید استیک گلایسل ۱۰ میلی‌لیتر استفاده شد. در این مرحله ۱۰۰۰ سانتی‌متر مکعب آب مقطر را در ارلن ریخته و روی حرارت گذاشتیم تا به نقطه جوش برسد. سپس از روی حرارت برداشته شد و به آرامی پودر آلن دوپتاس را در آن ریختیم و مجدداً بر روی حرارت گذاشته شد تا کاملاً حل شود. پودر هماتوکسیلین را در ۵۰ سانتی‌متر مکعب الکل اتیلیک ۹۶ درجه حل کردیم و دمای محلول آلن دوپتاس و آب را به حدود ۸۵ درجه رساندیم. سپس محلول هماتوکسیلین را روی آن ریخته و بعد از اضافه کردن پودر اکسید مرکوریک، ظرف را زیر شیر آب سرد قرار دادیم و ضمن بهم زدن، بوسیله‌ی میله‌ی شیشه‌ای، سریع سرد کردیم، سپس ۱۰ سانتی‌متر مکعب اسید استیک گلایسیال به مدت ۲۴ ساعت اضافه نمودیم و بعد از آن قابل مصرف شد. ضمناً نگهداری آن در شیشه‌های تیره مناسب می‌باشد. ساخت ائوزین بدین صورت بود که ۱۰ گرم پودر ائوزین را در ۱۰۰ سانتی‌متر مکعب آب مقطر ریخته و حل کردیم (می‌توان برای حل کردن از کمی حرارت دادن استفاده کرد). سپس آن را در ۹۰۰ سانتی‌متر مکعب الکل اتیلیک ۹۶ درجه ریخته و ۱۰ سانتی‌متر مکعب اسید استیک گلایسیال به آن اضافه کردیم. این رنگ بلافاصله قابل مصرف شد (ساختن اسید الکل: ۱۰ سانتی‌متر مکعب اسید کلریدریک در ۱۰۰۰ سانتی‌متر مکعب الکل اتیلیک ۷۰ درجه ریخته شد).

ساخت لیتیوم کربنات: پودر لیتیوم کربنات را در مقداری آب معمولی ریخته و حل کردیم به طوری که بعد از ته‌نشین شدن رسوب باقی ماند. سپس از روی محلول برداشته و استفاده کردیم و مجدد آب ریخته تا برای دفعه‌ی دیگر آماده باشد.

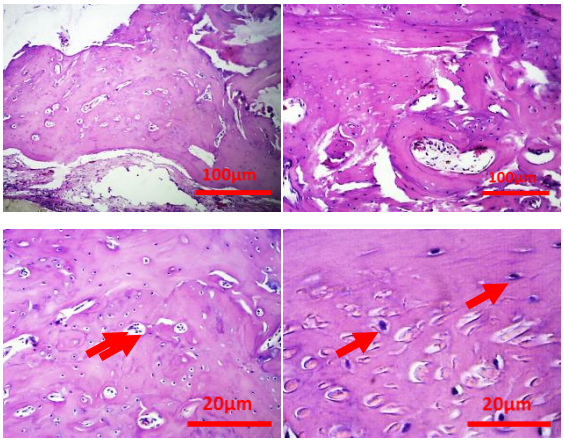
به کمک رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین هسته‌ها رنگ آبی و سیتوپلاسم رنگ صورتی به خود می‌گیرند.

1- Entellane(Merck, Germany)LOT HX74561761
1- Mounting

برای مقایسه‌ی گروه‌های شاهد و تمرین در سه رده‌ی سنی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تقریبی Tukey استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه‌ی ۵ صورت گرفت.

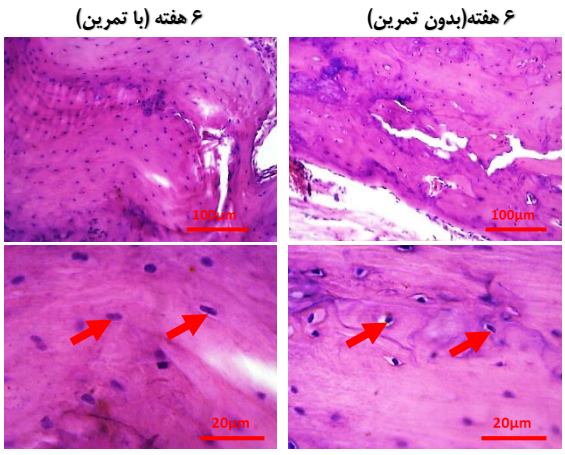
یافته‌ها

تصاویر مربوط به بافت استخوانی موش‌های تمرین کرده و بدون تمرین در سه رده‌ی سنی کودک، بالغ و سالمند در اشکال ۱ تا ۳ ارائه شده است.



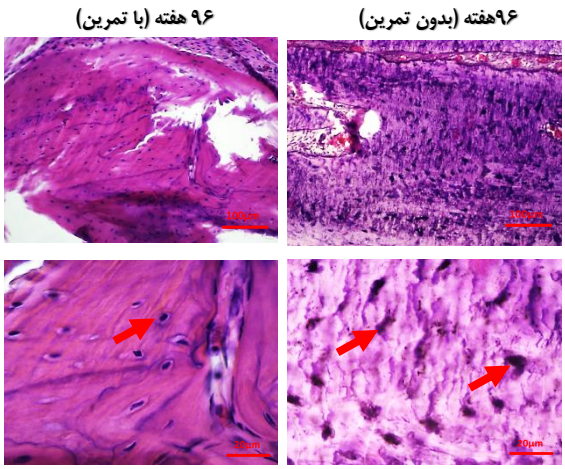
شکل ۱. تصویر بافت استخوانی در گروه تمرین کودک و گروه بدون تمرین کودک

از آنالیز واریانس یک طرفه با آزمون تعقیبی Tukey برای مقایسه‌ی گروه‌ها استفاده شد (جدول ۱). مقایسه‌ی تعداد سلول‌های استئوبلاست با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه نشان داد بین ۶ گروه تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < ۰/۰۵$). بر اساس آزمون تعقیبی Tukey مشخص شد، تعداد سلول‌های استئوبلاست در موش‌های تمرین کرده کودک، بالغ و سالمند در مقایسه با گروه شاهد خودشان، بالاتر بود. بدین معنی که تمرین، باعث افزایش سلول‌های استئوبلاست در هر سه رده‌ی سنی شد. مقایسه‌ی موش‌های سه گروه شاهد نشان داد، تعداد سلول‌های استئوبلاست موش‌های تمرین کرده‌ی کودک و بالغ بالاتر از موش‌های سالمند بود. بدین معنی که بعد از بلوغ، شاهد کاهش بارز سلول‌های استئوبلاستی در دوره‌ی سالمندی هستیم. از سوی دیگر مقایسه‌ی موش‌های سه گروه تمرین نشان داد، تعداد سلول‌های استئوبلاست در موش‌های تمرین کرده‌ی کودک و بالغ بالاتر از موش‌های سالمند بود. بدین معنی که تمرین‌پذیری در رده‌های سنی پایین‌تر بیشتر از گروه سالمند بود (شکل ۴).



شکل۲. تصویر بافت استخوانی در گروه تمرین بالغ و گروه بدون تمرین بالغ

در خصوص سلول‌های استئوسیت، آزمون واریانس یک طرفه نشان داد بین ۶ گروه تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < ۰/۰۵$). همچنین آزمون تعقیبی Tukey نشان داد، تعداد سلول‌های استئوسیت در موش‌های تمرین کرده‌ی کودک، بالغ و سالمند در مقایسه با گروه شاهد، بالاتر بود. در واقع تمرینات باعث افزایش سلول‌های استئوسیت در هر سه رده‌ی سنی شد. مقایسه‌ی موش‌های سه گروه شاهد نشان داد که تعداد سلول‌های استئوسیت موش‌های تمرین کرده بالغ و کودک بالاتر از موش‌های سالمند بود. بدین معنی که بعد از بلوغ، شاهد کاهش بارز سلول‌های استئوسیتی در دوره‌ی سالمندی هستیم. از سوی دیگر مقایسه‌ی موش‌های سه گروه تمرین نشان داد، تعداد سلول‌های استئوسیت در موش‌های تمرین کرده بالغ بالاتر از موش‌های سالمند بود. این نشان‌دهنده‌ی این است که تمرین‌پذیری در رده‌ی سنی سالمند پایین‌تر بود (شکل ۵).

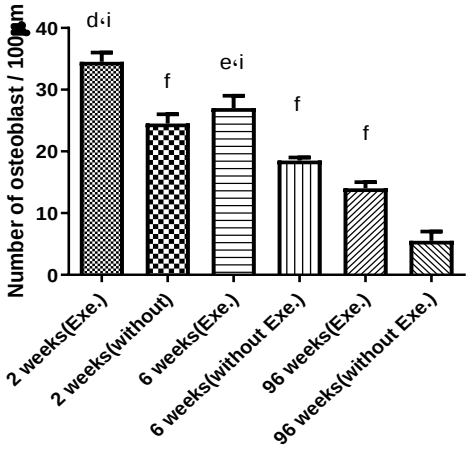


شکل ۳. تصویر بافت استخوانی در گروه تمرین سالمند و گروه بدون تمرین سالمند

جدول ۱. نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه جهت مقایسه‌ی گروه‌ها در شاخص‌های تراکم سلولی

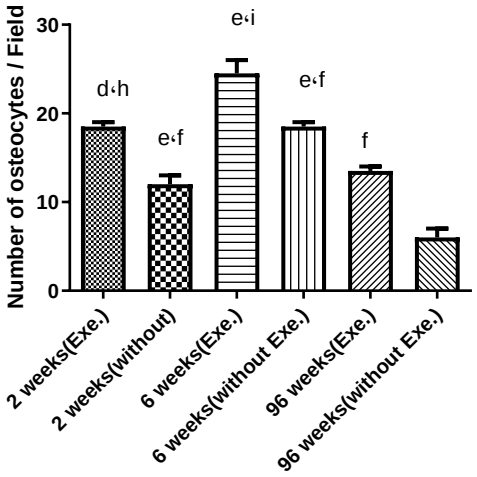
متغیر		میانگین مجذور	df	F	معنی‌داری
استئوبلاست	بین گروهی	۲۱۰/۱	۵	۵۲/۵۳	*۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۴/۰	۶		
استئوسیت	بین گروهی	۸۲/۲۰	۵	۴۹/۳۲	*۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۱/۶۶	۶		
استوکلاست	بین گروهی	۷۵/۴۸	۵	۶۰/۳۹	*۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۱/۲۵	۶		

علاوه بر این، مقایسه‌ی تعداد سلول‌های استئوکلاست با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه نشان داد بین ۶ گروه تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < ۰/۰۵$). بر اساس آزمون تعقیبی Tukey مشخص شد، تعداد سلول‌های استئوکلاست در موش‌های تمرین کرده بالغ و سالمند در مقایسه با گروه شاهد خودشان، پایین‌تر بود. بدین معنی که تمرین، باعث کاهش سلول‌های استئوکلاست در رده‌ی سنی بالغ و سالمند شد. علاوه بر این، مقایسه‌ی موش‌های سه گروه شاهد نشان داد تعداد سلول‌های استئوکلاست موش‌های سالمند و بالغ بالاتر از موش‌های کودک بود. بدین معنی که بعد از دوران کودکی شاهد افزایش بارز سلول‌های استئوکلاست هستیم. از سوی دیگر مقایسه‌ی موش‌های سه گروه تمرین نشان داد، تعداد سلول‌های استئوکلاست در موش‌های تمرین کرده سالمند و بالغ بالاتر از موش‌های کودک بود. بدین معنی که تمرین‌پذیری در رده‌های سنی بالاتر بیشتر از گروه کودک بود (شکل ۶).



شکل ۴. تعداد استئوبلاست‌ها در رده‌های سنی مختلف

2W+EXE: گروه تمرین کرده دوران کودک، 2W: گروه کنترل دوران کودک،
6W+EXE: گروه تمرین کرده دوران بالغ، 6W: گروه کنترل دوران بالغ،
96W+EXE: گروه تمرین کرده دوران سالمند و 96W: گروه کنترل دوران سالمند
e: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه 2W d: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه 6W
f: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه 96 W؛ i: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه 96WE



شکل ۵. تعداد استئوسیت‌ها در رده‌های سنی مختلف.

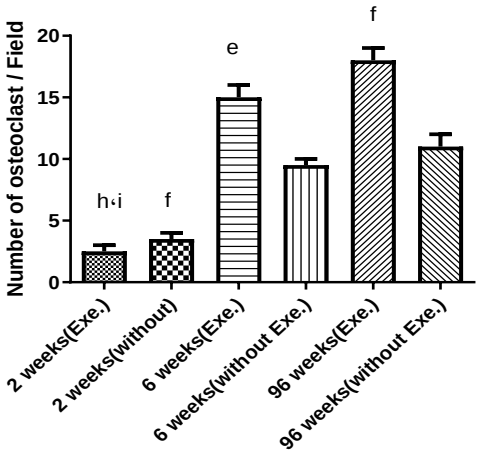
2W+EXE: گروه تمرین کرده دوران کودک، 2W: گروه کنترل دوران کودک،
6W+EXE: گروه تمرین کرده دوران بالغ، 6W: گروه کنترل دوران بالغ،
96W+EXE: گروه تمرین کرده دوران سالمند و 96W: گروه کنترل دوران سالمند
e: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه 6W d: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه 2W
f: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه 96 W؛ i: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه 96WE

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، تمرین مقاومتی به همراه تمرین استقامتی بر موش‌های نر در سه رده‌ی سنی بالغ، کودک و سالمند به مدت ۶ هفته اعمال شد تا تأثیر این نوع تمرینات بر بافت استخوان فمور این حیوانات مشخص شود.

بر اساس مقایسه‌ی گروه‌های مختلف مشخص شد تمرین مقاومتی– استقامتی سبب افزایش تعداد سلول‌های استئوبلاست و استئوسیت در موش‌های تمرین کرده کودک، بالغ و سالمند در مقایسه با گروه شاهد شد. با این حال تعداد سلول‌های استئوکلاست فقط در رده‌ی سنی سالمند و بالغ کاهش نشان داد. علاوه بر این مقایسه‌ی موش‌های سه گروه تمرین نشان داد، تعداد سلول‌های استئوبلاست و استئوسیت در موش‌های تمرین کرده کودک و بالغ بالاتر از موش‌های سالمند بود. بدین معنی که تمرین‌پذیری در رده‌های سنی پایین‌تر

بیشتر از گروه سالمند بود. همچنین تعداد سلول‌های استئوکلاست در رده‌ی سنی سالمند و بالغ بالاتر از کودک بود. در واقع تمرین‌پذیری در رده‌های سنی بالاتر بیشتر از گروه کودک بود.



شکل ۶. تعداد استئوکلاست‌ها در رده‌های سنی مختلف.
2W+EXE: گروه تمرین کرده دوران کودک، 2W: گروه کنترل دوران کودک، 6W+EXE: گروه تمرین کرده دوران بالغ، 6W: گروه کنترل دوران بالغ، 96W+EXE: گروه تمرین کرده دوران سالمند و 96W: گروه کنترل دوران سالمند e. تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه 6W، f: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه 96W h: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه 6WE؛ i: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه 96WE

نشان داده شده است که افراد بالغ بهتر از افراد سالمند می‌توانند به برنامه‌ی ورزشی پاسخ دهند (۲۷). به عنوان مثال Turner و همکاران نشان دادند واکنش مکانیکی برای سازگاری‌های استخوانی در موش‌های بالغ در مقایسه با موش‌های مسن بیشتر بود، اگرچه پس از فعال شدن، سلول‌های موش‌های مسن ظرفیت پاسخگویی به بار مکانیکی مشابه موش‌های بالغ را نشان دادند (۲۸). در پژوهش ما مقادیر سلول‌های استئوسیتی و استئوبلاستی در موش‌های بالغ تمرین کرده و کودک، بیشتر از رده‌ی سنی سالمند بود. همسو با پژوهش حاضر، Banparvari و Kaka، تغییرات اسکلتی ناشی از دو برنامه‌ی تمرینی با بارگذاری فزاینده بر روی ویژگی‌های استخوانی موش‌های صحرایی نر بالغ با پوکی استخوان را به مدت ۱۲ هفته بررسی کردند. نتایج نشان داد که گروه‌های استقامتی و مقاومتی، تراکم استخوان فمور را نسبت به گروه شاهد افزایش دادند (۲۹). محققان به این نتیجه رسیدند که تمرینات مقاومتی با شدت بالاتر در مقایسه با تمرینات استقامتی می‌تواند تغییرات مؤثرتری در تراکم مواد معدنی و استحکام مکانیکی استخوان ایجاد کند. همچنین مشخص شده است که نوع، مدت و شدت تمرین ورزشی نقش مهمی در تمایز، رشد و عملکرد استئوبلاست دارد (۲۶).

در این رابطه Vincent و Braith نشان دادند با تمرین مقاومتی شدت بالا به منظور بهبود تراکم استخوان نسبت به تمرینات مقاومتی با شدت کم مؤثرتر بود (۳۰). علاوه بر این، Zargar در پژوهش خود روی مردان بالغ چاق به این نتیجه دست یافتند که سه ماه تمرین ورزشی هوازی با شدت ۶۰ تا ۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه منجر به تغییر معنی‌داری در برخی نشانگرهای متابولیسمی استخوان در مردان چاق تمرین نکرده گردید که در مجموع نشان داده شد، فعالیت ورزشی سبب افزایش توده‌ی استخوانی می‌گردد. آن‌ها عنوان کردند که این تغییرات می‌تواند نشان‌دهنده‌ی افزایش جذب کلسیم و احتمالاً اثرات آنابولیکی پاراتورمون و تمرین باشد (۳۱). در خصوص مکانیسم احتمالی می‌توان گفت که پاراتورمون نقش مهمی در تنظیم سوخت و ساز استخوان دارد. به‌طوری که با تحریک مسیر AMPK تعدادی از سلول‌های استئوبلاست را فعال و سبب افزایش این سلول‌ها می‌شود (۳۲). از طرفی، پاراتورمون با تحریک فعالیت استئوکلاست‌ها و تحریک بازجذب کلسیم در کلیه‌ها در حفظ یون کلسیم و فسفات غیر آلی نقش دارد (۳۳). بنابراین شدت تمرینات ورزشی به عنوان یک آستانه‌ی تحریک می‌تواند سبب افزایش پاراتورمون و در نهایت اثر آنابولیکی در نوسازی استخوان شود. علاوه بر این، تمرینات ورزشی با شدت مناسب سبب افزایش آلکالین فسفات از به عنوان یک نشانگر تشکیل استخوان و در نهایت افزایش فعالیت استئوبلاستی می‌شود (۳۴).

در یک مطالعه تأثیر ورزش یی‌جین جینگ به همراه تمرین مقاومتی باند الاستیک بر تراکم مواد معدنی استخوان در زنان یائسه نشان داد که تمرین مقاومتی با باند الاستیک می‌تواند، کاهش تراکم استخوان در زنان یائسه را به تأخیر بیندازد. همچنین این تمرینات سطح متابولیت‌های تشکیل استخوان را افزایش و سطح متابولیت‌های جذب استخوان را مهار کرد (۳۵). با این حال در بعضی مطالعات تغییراتی در تراکم استخوان افراد مشاهده نشده است (۱۸، ۳۶). پژوهشی نشان داد که تمرین مقاومتی، هیچ تأثیر مثبتی بر تراکم استخوان نسبت به مکمل کلسیم به تنهایی نداشت. آن‌ها نتیجه گرفتند که بار اعمال شده به استخوان از تمرینات قدرتی، عامل مهمی برای افزایش تعداد سلول‌های استخوانی می‌باشد (۳۶). علت تفاوت نتایج این مطالعه با ژوهش ما را می‌توان، شرایط آزمودنی‌ها در محیط آزمایش و نوع برنامه‌ی تمرینی دانست.

علاوه بر این، Kurgan و همکاران، تأثیر دوازده هفته تمرین ورزشی بر پاسخ نشانگر بیوشیمیایی استخوان به ورزش حاد را در دختران مبتلا به اضافه وزن و چاق مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تمرین ۱۲ هفته‌ای طولانی برای مدیریت وزن در نوجوانان مبتلا به چاقی، پاسخ اسکلروستین که یک مهارکننده‌ی

تشکیل استخوان می‌باشد را کاهش داده، همچنین تمایز استئوکلاست‌ها و تکامل استخوان در دختران نوجوان افزایش یافت. با این حال بر پاسخ کوتاه‌مدت نشانگرهای جذب استخوانی و استئوکلسین به ورزش حاد تأثیری نداشت (۳۷).

Ahmadi Kakavandi و همکاران، تأثیر شش ماه تمرین مقاومتی با شدت کم و حجم زیاد (بادی پمپ) بر تراکم و تعادل استخوان در زنان یائسه را بررسی کردند. نتایج نشان‌دهنده‌ی افزایش تراکم استخوان و تعادل مهره‌های کمر در گروه تمرین مقاومتی بود (۱۹). در این مطالعه ترکیب تمرینات مقاومتی- استقامتی بر تعداد سلول‌های استخوانی و تمایز آن‌ها اثر مثبتی داشت. به نظر می‌رسد تمرینات از طریق القای استرس مکانیکی و تحریک ترشح هورمون‌های آنابولیک، سبب فعال‌سازی استئوبلاست‌ها و استئوژنز شده است. بر این اساس منطقی به نظر می‌رسد که این مداخلات بتوانند از طریق این مکانیسم‌ها اثرات مثبتی بر تعداد سلول‌های استخوانی موش‌های در رده‌های سنی مختلف داشته باشد. از محدودیت‌های تحقیق حاضر، جنسیت موش‌ها بود که بهتر است در مطالعات آتی مورد توجه قرار گیرد. همچنین می‌توان در مطالعات بعدی به مقایسه‌ی سه نوع تمرین مقاومتی، هوازی و ترکیبی در سه رده‌ی سنی پرداخت.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد تمرین مقاومتی- استقامتی منجر به افزایش سلول‌های استخوان‌ساز و کاهش سلول‌های استخوان‌خوار شد. هرچند آثار ورزش بر استخوان‌سازی در رده‌های سنی پایین‌تر بیشتر از دوران سالمندی بود. با این وجود ممانعت ورزش از روند استخوان‌خواری در سنین بالاتر خصوصاً دوره‌ی سالمندی مشهود بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع دکتری رشته‌ی فیزیولوژی ورزشی به شماره‌ی 1174822004599711399162361113 می‌باشد که در دانشگاه آزاد اسلامی رشت به تصویب رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات از سرکار خانم دکتر مظاهری و همچنین اعضای شرکت بافت وژن پاسارگاد که در اجرای پژوهش به ما یاری رساندند، تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Ikedo A, Kido K, Ato S, Sato K, Lee JW, Fujita S, et al. The effects of resistance training on bone mineral density and bone quality in type 2 diabetic rats. Physiol Rep 2019; 7(6): e14046.
2. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. JAMA 2001; 285(6): 785-95.
3. Posch M, Schranz A, Lener M, Tecklenburg K, Burtscher M, Ruedl G, et al. Effectiveness of a mini-trampoline training program on balance and functional mobility, gait performance, strength, fear of falling and bone mineral density in older women with osteopenia. Clin Interv Aging 2019; 14: 2281-93.
4. Angın E, Erden Z, Can F. The effects of clinical pilates exercises on bone mineral density, physical performance and quality of life of women with postmenopausal osteoporosis. J Back Musculoskelet Rehabil 2015; 28(4): 849-58.
5. Troy KL, Mancuso ME, Butler TA, Johnson JE. Exercise early and often: effects of physical activity and exercise on women's bone health. Int J Environ Res Public Health 2018; 15(5): 878.
6. Zoch ML, Clemens TL, Riddle RC. New insights into the biology of osteocalcin. Bone 2016; 82: 42-9.
7. Zhang S, Huang X, Zhao X, Li B, Cai Y, Liang X, et al. Effect of exercise on bone mineral density among patients with osteoporosis and osteopenia: A systematic review and network meta-analysis. J Clin Nurs 2022; 31(15-16): 2100-11.
8. Park H, Kim KJ, Komatsu T, Park SK, Mutoh Y. Effect of combined exercise training on bone, body balance, and gait ability: a randomized controlled study in community-dwelling elderly women. J Bone Miner Metab 2008; 26(3): 254-9.
9. Lin LL, Hsieh SS. Effects of strength and endurance exercise on calcium-regulating hormones between different levels of physical activity. J Mech Med Biol 2005. 5(2): 267-75.
10. Yokota H, Leong DJ, Sun HB. Mechanical loading: bone remodeling and cartilage maintenance. Curr Osteoporos Rep 2011; 9(4): 237-42.
11. Gomez-Bruton A, Montero-Marín J, González-Agüero A, Gómez-Cabello A, García-Campayo J, Moreno LA, et al. Swimming and peak bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. J Sports Sci 2018; 36(4): 365-77.
12. Zinner C, Baessler B, Weiss K, Ruf J, Michels G, Holmberg HC, et al. Effect of resistance training with vibration and compression on the formation of muscle and bone. Muscle Nerve 2017; 56(6): 1137-42.
13. Rahimian, M. and P. Hejazi, Female Athletes Bone Mineral Density Measurement. 2003.
14. Singulani MP, Stringhetta-Garcia CT, Santos LF, Morais SRL, Louzada MJQ, Oliveira SHP, et al. Effects of strength training on osteogenic differentiation and bone strength in aging female Wistar rats. Sci Rep 2017; 7(1): 42878.
15. Swift JM, Nilsson MI, Hogan HA, Sumner LR, Bloomfield SA. Simulated resistance training during hindlimb unloading abolishes disuse bone loss and maintains muscle strength. J Bone Miner Res 2010; 25(3): 564-74.
16. Tan VP, Macdonald HM, Kim SJ, 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. J Bone Miner Res 2014; 29(10): 2161-81.
17. Payandeh N, Peeri M, Azarbayjani MA, Hosseini SA. The effect of resistance training and date pollen extract on bone tissue density and osteoblast cell proliferation in young male rats [in Persian]. Razi J Med Sci 2022; 29(2): 77-90.
18. Aikawa Y, Yamashita T, Nakai N, Higashida K. Low-carbohydrate, high-fat diet, and running exercise influence bone parameters in old mice. J Appl Physiol (1985) 2022; 132(5): 1204-12.
19. Ahmadi Kakavandi M, Alikhani S, Azizbeigi K. The effect of body pump training on bone mineral density and balance in postmenopausal women. Iran J Health Educ Health Promot 2019; 7(3): 316-27.
20. Mosti MP, Kaehler N, Stunes AK, Hoff J, Syversen U. Maximal strength training in postmenopausal women with osteoporosis or osteopenia. J Strength Cond Res 2013; 27(10): 2879-86.
21. Pereira A, Costa AM, Palmeira-de-Oliveira A, Soares J, Monteiro M, Williams JHH. The effects of combined training on bone metabolic markers in postmenopausal women. Science & Sports, 2016; 31(3): 152-7.
22. Woolf AD, Pfleger B. Burden of major musculoskeletal conditions. Bull World Health Organ 2003; 81(9): 646-56.
23. Honda A, Sogo N, Nagasawa S, Shimizu T, Umemura Y. High-impact exercise strengthens bone in osteopenic ovariectomized rats with the same outcome as Sham rats. J Appl Physiol (1985) 2003; 95(3): 1032-7.
24. Kim HJ, So B, Choi M, Kang D, Song W. Resistance exercise training increases the expression of irisin concomitant with improvement of muscle function in aging mice and humans. Exp Gerontol 2015; 70: 11-7.
25. Fadaei Chafy MR, Bagherpour Tabalvandani MM, Elmieh A, Arabzadeh E. Determining the range of aerobic exercise on a treadmill for male Wistar rats at different ages: A pilot study. J Exerc Organ Cross Talk 2022; 2(3): 96-100.
26. Soves CP, Miller JD, Begun DL, Taichman RS, Hankenson KD, Goldstein SA. Megakaryocytes are mechanically responsive and influence osteoblast proliferation and differentiation. Bone 2014; 66: 111-20.
27. Going SB, Farr JN. Exercise and bone macro-architecture: is childhood a window of opportunity for osteoporosis prevention? Int J Body Compos Res 2010; 8: 1-9.
28. Turner CH, Takano Y, Owan I. Aging changes mechanical loading thresholds for bone formation in rats. J Bone Miner Res 1995; 10(10): 1544-9.
29. Banparvari M, Kaka G. Effects of endurance and resistance exercises on bone mineral density and mechanical strength of osteoporotic male rats [in Persian]. J Birjand Univ Med Sci 2015; 22(4): 327-39.
30. Vincent KR, Braith RW. Resistance exercise and bone turnover in elderly men and women. Medicine and science in sports and exercise, 2002; 34(1): 17-23.
31. Zargar T, Banaeifar A, Arshadi S, Eslami R. Effect of a three-month aerobic exercise on markers of bone metabolism in obese men. Ebnesina 2016; 18(2): 32-9.
32. Turner PR, Mefford S, Christakos S, Nissenson RA. Apoptosis mediated by activation of the G protein-coupled receptor for parathyroid hormone (PTH)/PTH-related protein (PTHrP). Mol Endocrinol 2000; 14(2): 241-54.
33. Askari A, Askari B, Fallah Z, Samavati MA. Comparing the biological markers of bone metabolism in female athletes engaged in weight bearing sports, and nonathletes [in Persian]. IJHPA 2013; 4(2): 31-6.
34. Poole KES, Reeve J. Parathyroid hormone - a bone anabolic and catabolic agent. Curr Opin Pharmacol 2005; 5(6): 612-7.
35. Li J, Gu Q, Li R, Wang R, Cai Y, Huang Y, et al. Effect of Yi Jin Jing exercise plus elastic band resistance exercise on overall bone mineral density in postmenopausal women. J Sci Med Sport 2023; 26(2): 87-92.
36. Kerr D, Ackland T, Maslen B, Morton A, Prince R. Resistance training over 2 years increases bone mass in calcium-replete postmenopausal women. J Bone Miner Res 2001; 16(1): 175-81.
37. Kurgan N, Skelly LE, Ludwa IA, Klentrou P, Josse AR. Twelve weeks of a diet and exercise intervention alters the acute bone response to exercise in adolescent females with overweight/obesity. Front Physiol 2023; 13: 1049604.

DOI: *10.48305/jims.v41.i734.0764*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 41, No. 734, 2nd Week, November 2023**

Received: 04.05.2023 Accepted: 24.10.2023 Published: 05.11.2023

Comparison of the Effect of Resistance-Endurance Training on the Number of Osteocyte, Osteoblast, and Osteoclast Cells in Femur Bone Tissue in Adult, Child, and Elderly Male Rats

Mahshid Shiri[1], Mohammad Reza Fadaei Chafy[2], Shahram Gholamrezaei[3]

Original Article

Abstract

Background: Although exercise is known as an effective factor in maintaining and improving bone strength; it is not clear that its effects on bone-forming and bone-eating cells of different age groups are the same. Therefore, this study aimed to investigate the effect of resistance-endurance training on the number of osteocyte, osteoblast, and osteoclast cells in femur bone tissue in male rats of different ages.

Methods: In the present study, 30 male Wistar rats in three age groups of 2 weeks, 6 weeks, and 96 weeks were randomly divided into 2 groups of 5 each, training and control. Resistance-endurance exercises were performed for 6 training sessions per week for 6 weeks. Rats were sacrificed under carbon dioxide gas. H&E staining was used for tissue microscopic examination.

Findings: The results of one-way analysis of variance with Tukey's post hoc test showed that higher amounts of osteoblast and osteocyte cells and lower amounts of osteoclast cells in trained rats of all three age groups were significant compared to their control group. The comparison of exercise groups showed that the number of osteoblasts in the child and adult groups, the number of osteocytes in the adult group, and the number of osteoclasts in the adult and elderly groups were higher.

Conclusion: The results showed that resistance-endurance training led to an increase in bone-forming cells and a decrease in bone-eating cells. However, the effects of exercise on bone formation in younger age groups were more than in old age. Nevertheless, the prevention of exercise from the process of bone loss in older age, especially old age, was evident.

Keywords: Strength exercise; Aerobic exercise; Osteocyte; Osteoblast; Osteoclast

Citation: Shiri M, Fadaei Chafy MR, Gholamrezaei S. **Comparison of the Effect of Resistance-Endurance Training on the Number of Osteocyte, Osteoblast, and Osteoclast Cells in Femur Bone Tissue in Adult, Child, and Elderly Male Rats.** J Isfahan Med Sch 2023; 41(734): 764-72.

1- PhD Candidate of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Science, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
2- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
3- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
Corresponding Author: Mohammad Reza Fadaei Chafy, Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran; Email: mfadaei2000@yahoo.com