

## اثر تمرین استقامتی همراه با مکمل کلسیم بر برخی شاخص‌های هیستومورفومتری اپی‌فیز نزدیک درشت‌نی موش‌های بدون تخمدان

\*دکتر ولی اله دیدی روشن<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۲/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۵/۱۷

### چکیده

زنان سالمند در معرض افزایش خطر از دست دادن استخوان و شکستگی آن قرار دارند. مشخص شده کلسیم کافی و تمرینات تحمل وزن، تکامل اسکلتی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، اما اثرات ترکیبی کلسیم و تمرینات تحمل وزن، به‌ویژه بر هیستومورفومتری استخوان، کاملاً مشخص نشده است. در این مطالعه اثرات مصرف مکمل کلسیم، تمرینات تحمل وزن و ترکیبی از این دو را بر اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی در موش‌های بدون تخمدان بررسی شده است. پنجاه و دو سر موش صحرایی جوان ماده بالغ از نژاد Sprague Dawley که به‌صورت تصادفی به گروه‌های پایه (برای تعیین مقادیر شاخص‌های هیستومورفومتری، سه ماه پس از برداشتن تخمدان و قبل از آغاز مرحله اصلی تحقیق)، تمرین استقامتی، مکمل کلسیم، ترکیب تمرین و کلسیم و سرانجام گروه کنترل (که هیچ‌گونه مداخله تمرینی یا مکمل‌گیری را طی دوره اصلی اجرای پروتکل تحقیق تجربه نکردند) تقسیم شدند. گروه تمرینی، در طول هشت هفته پروتکل دوی فزاینده را با سرعت ۱۲ تا ۲۰ متر در دقیقه، به مدت ۱۰ تا ۵۹ دقیقه و پنج جلسه در هفته اجرا کردند. گروه کلسیم از طریق گاوآز، روزانه ۳۵ میلی‌گرم کلسیم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. پس از هشت هفته، پارامترهای هیستومورفومتری اپی‌فیز بالای استخوان درشت‌نی با استفاده از دستگاه آنالیز تصویربرداری نیمه‌اتوماتیک مجهز به آکولار میکرومتر اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون  $t$  وابسته و تحلیل واریانس یک‌طرفه در سطح  $P \leq 0.05$  تحلیل شد. نتایج نشان داد برداشتن تخمدان به کاهش فاصله بافت اسفنجی و همچنین ضخامت و حجم بافت‌های استخوانی متراکم و اسفنجی اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی منجر شده است. دویدن روی نوارگردان و مکمل کلسیم باعث افزایش معنی‌دار این شاخص‌ها، در مقایسه با گروه کنترل شد. به علاوه، پارامترهای هیستومورفومتری اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی به میزان قابل

توجهی در گروه ترکیبی بالاتر از هریک از گروه‌های مجزای کلسیم یا تمرینی بود. همچنین هرچند اثربخشی تمرین بر پارامترهای هیستومورفومتری در کل بهتر از کلسیم بود، اما تفاوت آماری معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده نشد. این نتایج نشان می‌دهد سبک زندگی عاملی مهم در بروز یا پیشگیری از پوکی استخوان است و انجام تمرینات تحمل وزن یا مکمل کلسیم می‌تواند اثر مهاری یا عکس در فرآیند کاهش ناشی از یائسگی در هیستومورفومتری استخوان‌های تحمل وزن داشته باشد.

**کلیدواژه‌های فارسی:** تمرینات تحمل وزن، یائسگی، مکمل کلسیم، موش صحرائی، هیستومورفومتری استخوان.

## مقدمه

شکستگی‌های ناشی از پوکی استخوان در زنان، پس از دوره یائسگی بسیار شایع است و علت بسیاری از مرگ و میرهاست (۱). هرچند سن، عاملی خطر مستقلی برای شکستگی استخوان است، اما ویژگی‌های هیستومورفومتری<sup>۱</sup> استخوان از قبیل ضخامت و حجم استخوان اسفنجی<sup>۲</sup> (تراپیکولار) و استخوان غشایی<sup>۳</sup> (کورتیکال) و فاصله بافت اسفنجی<sup>۴</sup>، که در فرآیند پوکی استخوان از دست می‌روند، از قوی‌ترین پیشگویی‌کننده‌های شکستگی‌های بعدی به‌شمار می‌روند (۲، ۳). در علم پزشکی، تعیین این قبیل شاخص‌های هیستومورفومتری استخوان برای بررسی اولیه پوکی استخوان و دیگر بیماری‌های استخوانی مهم است (۴). سالیان زیادی بود که تنها چگالی مواد معدنی استخوان برای تعیین توده استخوان استفاده می‌شد، اما اخیراً ویژگی‌های هیستومورفومتری استخوان نیز به فهرست شاخص‌های بررسی پوکی استخوان افزوده شده است. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد استحکام و قدرت نهایی استخوان از طریق تعیین چگالی استخوان‌های اسفنجی و غشایی و همچنین ویژگی‌های هیستومورفومتری استخوان مشخص می‌شود (۲، ۵). گزارش‌های پژوهشی حاکی از ارتباط معکوس سن و ویژگی‌های هیستومورفومتری استخوان است؛ به گونه‌ای که با افزایش سن، ضخامت و حجم بافت‌های استخوانی اسفنجی و غشایی کاهش می‌یابد (۶)، در حالی که با افزایش سن از کودکی تا جوانی به تدریج فاصله بافت اسفنجی افزایش می‌یابد (۵).

1. Bone histomorphometry
2. Trabecular bone
3. Cortical bone
4. Trabecular separation

هرچند کاهش توده استخوانی مرتبط با سن در هر دو جنس دیده می شود، اما از دست رفتن توده استخوانی در زنان، به ویژه در چند سال اول پس از دوره یائسگی، سریع تر و مشهودتر است. به اعتقاد دانشمندان، این کاهش سریع توده استخوانی به دلیل کاهش ناگهانی مقدار استروژن در دوره یائسگی است؛ از این رو زنان بیشتر از مردان، در معرض خطر گسترش پوکی استخوان قرار دارند (۷-۱۰). به همین دلیل هرگونه راه کاری که باعث حفظ یا تخفیف روند کاهش چگالی استخوان در این دوره شود، می تواند استراتژی مفیدی برای کاهش خطر پوکی استخوان در این دوران باشد. در زنان سالمند، باز جذب<sup>۱</sup> استخوان به میزان زیادی افزایش می یابد و این موضوع تا حدی به دلیل کاهش مصرف کلسیم است (۱۰-۱۳). مشخص شده است نارسایی کلسیم در حیوانات آزمایشگاهی تشکیل استخوان را مهار می کند (۱۱، ۱۲). از سوی دیگر، نتایج تحقیقات نشان داده است کاهش فعالیت های بدنی نیز موجب افزایش روند پوکی استخوان در دوران یائسگی می شود (۸، ۱۴)؛ بنابراین، ورزش و کلسیم از عوامل محیطی قابل تغییری شناخته شده اند که نقشی تعیین کننده در حداکثر توده استخوانی دارند.

برخی محققان جامعه پزشکی تأثیر تغییرات فصلی، بلوغ (۱، ۹، ۱۵)، کلسیم و ویتامین D را نیز بر شاخص های هیستومورفومتری استخوان بررسی کرده اند (۱۱). آرنز و همکاران (۲۰۰۷) تغییرات فصلی ضخامت و فاصله استخوان اسفنجی و همچنین ضخامت استخوان غشایی را در گوسفند ارزیابی کردند و بیشترین و کمترین مقادیر آن را به ترتیب در فصل های تابستان و زمستان گزارش دادند (۹). استروم و همکاران (۱۹۹۸) نیز با تأیید تغییرات فصلی این شاخص ها، گزارش دادند دریافت مکمل کلسیم می تواند از کاهش ناشی از تغییرات این شاخص ها در زمستان و بهار پیش گیری نماید (۱).

تحقیقات بسیار اندکی درباره اثر ورزش بر شاخص های هیستومورفومتری استخوان انجام شده که از میان آنها می توان به تحقیق هوانج و همکاران (۲۰۰۳) اشاره کرد. این محققان در پژوهشی، اثر دو روش تمرینی با تحمل وزن و بدون تحمل وزن را بر کانی شدن و ویژگی های مکانیکی استخوان های ران و درشتنی بررسی و مشاهده کردند با وجود این که حجم و ضخامت بافت استخوانی غشایی در استخوان های ران و درشتنی تغییر قابل توجهی نداشته است، اما پس از دو اجرای روش تمرینی، ویژگی های مکانیکی در استخوان های مذکور بهبود یافته است (۱۶). هرچند محققان زیادی اثر مجزای تمرینات ورزشی و مکمل های مختلف، از جمله کلسیم را بر چگالی مواد معدنی استخوان بررسی کرده اند، اما بررسی اثر تعاملی هریک از عوامل مذکور بر شاخص های هیستومورفومتری ناحیه ای در اپی فیز فوقانی درشت نی در

موش‌های بدون تخمدان، موضوعی است که کمتر مورد توجه محققان قرار گرفته است. ورزش در روند رشد، به‌طور موضعی بر فرآیند شکل‌گیری<sup>۱</sup> استخوان در نواحی تحت بارگیری تأثیر می‌گذارد (۱۷)، در حالی که اعتقاد بر این است که کلسیم به‌طور نظام‌مند برای شکل‌گیری مجدد<sup>۲</sup> استخوان اثرگذار است. با وجود این که کلسیم و ورزش از طریق سازوکارهای مختلف عمل می‌کنند، شواهد بسیاری نشان می‌دهند که ممکن نیست آنها مستقل از هم عمل کنند (۱۸). گزارش‌های پژوهشی یه و همکاران (۲۰۰۱) حاکی از آن است که ورزش استقامتی با شدت متوسط، نشانه‌های بازسازی<sup>۳</sup> کلژن استخوان و تغییر هموستاز کلسیم را در افراد بالغ جوان و زنان سالمند افزایش می‌دهد (۱۷). مصرف اندک کلسیم از طریق تغذیه ممکن است پاسخ سازشی استخوان به بارگیری ناشی از ورزش را به حداقل برساند. در مقابل، مصرف مقادیر زیاد کلسیم ممکن است اثر ورزش را در نواحی تحت بار افزایش دهد (۱۹-۲۱). فهم تعامل بین ورزش و کلسیم برای افزایش برای آگاهی از نقش این عوامل محیطی قابل‌تغییر در به حد مطلوب رساندن انباشتگی توده استخوان، به‌ویژه در دوره سالمندی مهم است. به‌علاوه، ورزش و مکمل کلسیم هم‌ارزان و هم‌توسط اقشار مختلف جامعه قابل‌استفاده‌اند و در حال حاضر، به‌عنوان یکی از استراتژی‌های اصلی پیش‌گیری از پوکی استخوان و شکستگی‌های حاصل از آن شناخته می‌شوند. بر این اساس، پژوهش حاضر در نظر دارد اثر تمرینات تحمل وزن (دویدن استقامتی) را همراه با مکمل کلسیم و بدون آن، بر برخی شاخص‌های هیستومورفومتری استخوان (ضخامت و حجم استخوان اسفنجی و استخوان غشایی و فاصله بافت اسفنجی) اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی در موش‌های بدون تخمدان بررسی نماید.

### روش‌شناسی تحقیق

آزمودنی‌های تحقیق را ۵۲ سر موش صحرایی ماده بالغ از نژاد Sprague Dawley با دامنه وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم تشکیل می‌دادند. از بین آنها ۷ سر موش، به‌صورت تصادفی برای تعیین میزان طبیعی و اولیه شاخص‌های هیستومورفومتری بافت‌های استخوانی غشایی و اسفنجی اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی، قبل از عمل جراحی انتخاب شدند. آن‌گاه، بقیه موش‌ها تحت عمل جراحی برداشتن تخمدان قرار گرفتند و پس از سه ماه قرارگیری در قفس (برای ایجاد شرایط لازم جهت کاهش چگالی استخوان)، به‌صورت تصادفی به پنج گروه شامل:

1. Bone histomorphometry
2. Remodeling
3. Turnover

گروه‌های پایه سه ماه پس از برداشتن تخمدان (پیش‌آزمون)، تمرین استقامتی، مکمل کلسیم، ترکیب تمرین و کلسیم و سرانجام گروه کنترل تقسیم شدند. در هر گروه ۵ سر موش وجود داشت، ضمناً گروه کنترل در مرحله اصلی هشت هفته‌ای پروتکل تحقیق هیچ‌گونه مداخله تمرینی یا مکمل‌گیری را تجربه نکردند.

برنامه تمرین استقامتی تحقیق حاضر شامل دویدن روی نوارگردان شش کاناله بود که به مدت هشت هفته انجام شد. آزمودنی‌ها هر هفته، پنج جلسه تمرین کردند. مدت جلسه تمرینی از ۱۰ دقیقه شروع شد و در آخرین جلسه به ۵۹ دقیقه رسید. سرعت دویدن نیز از ۱۲ متر بر دقیقه در جلسه اول شروع و به ۲۰ متر بر دقیقه در آخرین جلسه ختم شد. این پروتکل با توجه به هزینه انرژی، طراحی شد (۲۲) و شدت آن نیز فزاینده بود، به‌گونه‌ای که شدت آن در اولین جلسه تمرینی معادل ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و در آخرین جلسه تقریباً ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود (۲۳). برای گرم کردن نیز حیوانات در ابتدای هر جلسه تمرینی به مدت ۳ دقیقه، با سرعت ۷ متر در دقیقه می‌دویدند و سپس برای رسیدن به سرعت مورد نظر در هر جلسه تمرینی، به ازای هر دقیقه، ۲ متر در دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده می‌شد. برای سرد کردن در انتهای هر جلسه تمرینی نیز سرعت نوارگردان به‌طور معکوس کاهش می‌یافت تا به سرعت اولیه برسد.

آزمودنی‌های گروه مصرف مکمل کلسیم، به مدت هشت هفته، پنج روز در هفته، روزی سه وهله (صبح، ظهر و شب) و در مجموع ۳۵ میلی‌گرم کلسیم محلول، به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (با توجه به وزن کشتی هفتگی)، از طریق دهان و با استفاده از گاواژ دریافت کردند. کلسیم مورد استفاده در این تحقیق، Osteocare Liquid نام دارد که هر ۲۰۰ میلی‌لیتر آن شامل ۳۰۰ میلی‌گرم کلسیم، ۱۵۰ میلی‌گرم منیزیم، ۶ میلی‌گرم روی و ۳/۸ میکروگرم (۱۵۰ واحد بین المللی) ویتامین D است. این دارو محصول شرکت ویتابیوتیکس کشور انگلستان است و از طریق شرکت شفایاب گستر وارد کشور شد. این داروی سرشار از کلسیم، به دقت با کوفاکتورهایی از قبیل منیزیم، روی و ویتامین D ترکیب شده که برای جذب مؤثر کلسیم ضروری هستند و برای کمک به حفظ استحکام استخوان در مردان و زنان تمام سنین استفاده می‌شود.

برای عمل جراحی ابتدا موش‌ها با مخلوطی از کتامین و زایلازین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی‌گرم کتامین به زایلازین، به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. سپس روی خط سفید وسط شکم (لینه آلبا) از قسمت کلیه به پایین برشی به طول ۳ سانتی‌ایجاد و رحم و تخمدان خارج شد. محل قطع رحم ابتدا گره زده و بعد با قیچی چیده شد. آن‌گاه برش ایجاد شده، با بخیه

ساده تکی دوخته شد. برای جلوگیری از عفونت، داروهای پنی سیلین و استروپتومايسين با هم مخلوط و به عضله درشت نی خلفی موش‌ها تزریق شد. به علاوه، از اسپری OTC نیز در محل بخیه استفاده شد.

هریک از گروه‌های اشاره شده، بر اساس برنامه زمانی تعیین شده (یعنی تعیین میزان طبیعی و اولیه شاخص‌های مذکور قبل از برداشتن تخمدان، مقدار پایه، سه ماه پس از برداشتن تخمدان (پیش‌آزمون) و سرانجام هشت هفته تمرین) کشته شدند و استخوان درشت‌نی پای راست آنها بیرون کشیده شد. برای اندازه‌گیری شاخص‌های هیستومورفومتری اپی‌فیز نزدیک درشت‌نی، ابتدا از اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی پای راست، به فاصله ۱ تا ۴ میلی‌متر بخش تحتانی صفحه رشدی، برش‌های بافتی استخوان تهیه شد. نمونه‌های بافت، پس از آماده‌سازی به روشی که توسط هوارت و همکاران (۲) توصیف شده بود، با استفاده از دستگاه تحلیل تصویربرداری نیمه‌اتوماتیک<sup>۱</sup> مجهز به آکولار میکرومتر بررسی شدند.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی تغییرات فاصله بافت اسفنجی، ضخامت و حجم بافت‌های استخوانی غشایی و اسفنجی اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی از آزمون t وابسته در دو مرحله پیش‌آزمون و پس‌آزمون در هر گروه استفاده شد. برای بررسی تغییرات بین گروهی شاخص‌های هیستومورفومتری اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی نیز از تحلیل واریانس یک‌طرفه و در صورت مشاهده تغییرات معنی‌دار، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. مقدار معنی‌داری آماری نیز در سطح  $P \leq 0.05$  تعیین شد.

### یافته های تحقیق

تفاوت آماری معنی‌داری در میزان وزن و سن آزمودنی‌ها، در ابتدای پژوهش وجود نداشت. نتایج مطالعه اولیه در مورد تأثیر جراحی برداشتن تخمدان بر شاخص‌های هیستومورفومتری اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی نشان داد فاصله، حجم و ضخامت بافت اسفنجی پس از سه ماه کاهش معنی‌داری داشته، در حالی که حجم و ضخامت بافت استخوانی غشایی کاهش اندک غیر معنی‌دار را نشان می‌داد. نتایج مطالعه اصلی نشان داد هشت هفته تمرین دو استقامتی، افزایش معنی‌دار فاصله بافت اسفنجی و حجم و ضخامت هر دو بافت غشایی و اسفنجی را در پی دارد، در حالی که مکمل کلسیم فقط باعث افزایش معنی‌دار حجم استخوان غشایی می‌شود. از سوی دیگر، روند کاهش این شاخص‌ها، در اثر برداشتن تخمدان، در گروه کنترل ادامه

1. Semiautomated image analysis system

داشت که این کاهش فقط در خصوص فاصله و ضخامت بافت استخوانی اسفنجی معنی دار بود (جدول ۱). با این وجود، بررسی حجم و ضخامت این بافت‌ها بین گروه‌های مختلف، با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان می‌داد بین گروه‌های مداخله (تمرین استقامتی، کلسیم و گروه ترکیبی) و گروه کنترل اختلاف معنی داری وجود دارد. همچنین، اثربخشی تمرین استقامتی بر شاخص‌های هیستومورفومتری بهتر از گروه کلسیم بود، با این حال، تفاوت آماری قابل توجهی بین این دو گروه مشاهده نشد. به علاوه، تفاوت قابل توجهی بین ضخامت استخوان غشایی و اسفنجی و همچنین فاصله و حجم بافت اسفنجی گروه کلسیم، در مقایسه با گروه ترکیبی مشاهده شده است. از سوی دیگر، در خصوص ضخامت استخوان اسفنجی، بین گروه تمرینی و گروه ترکیبی تفاوت آماری معنی داری وجود دارد.

جدول ۱. تغییرات شاخص‌های هیستومورفومتری استخوانی اپی فیز نزدیک درشت‌نی\*

شاخص	گروه مرحله	تمرین استقامتی	مکمل کلسیم	تمرین و مکمل	کنترل
وزن (گرم)	پیش‌آزمون	۲۴۹/۲±۲/۴	۲۴۶/۵±۵	۲۴۸/۷±۳/۵	۲۴۸±۶/۶
	پس‌آزمون	۳۰۵/۵±۸/۵ †##	۲۹۲/۵±۶/۸ †##	۳۱۸/۲±۵/۶۵†	۲۷۹/۸۶±۷†
ضخامت استخوان غشایی (میکرون)	پیش‌آزمون	۳۲/۵۰±۳/۰۱	۳۲/۵۰±۳/۰۱	۳۲/۵۰±۳/۰۱	۳۲/۵۰±۳/۰۱
	پس‌آزمون	۴۳/۳۳±۶/۸۷ †##	۳۶/۴۴±۹/۶۱ †##	۴۷/۶۲±۷/۲۵ †##	۳۲/۵۰±۳/۰۱ †
حجم استخوان غشایی (/)	پیش‌آزمون	۲۰/۸۳±۵/۸۴	۲۰/۸۳±۵/۸۴	۲۰/۸۳±۵/۸۴	۲۰/۸۳±۵/۸۴
	پس‌آزمون	۳۰/۸۸±۶/۵۸ †##	۲۸/۷۵±۲/۳۱ †##	۳۱/۶۶±۲/۵۰ †##	۲۱/۵۵±۴/۶۱
ضخامت استخوان اسفنجی (میکرون)	پیش‌آزمون	۷/۶۶±۱/۳۶	۷/۶۶±۱/۳۶	۷/۶۶±۱/۳۶	۷/۶۶±۱/۳۶
	پس‌آزمون	۱۱/۶۶±۳/۶۷ †##	۹/۸۷±۱/۶۴ †##	۱۷/۵۵±۵/۸۱ †##	۵/۱۱±۱/۲۲ †
حجم استخوان اسفنجی (/)	پیش‌آزمون	۷۲/۱۶±۵/۸۴	۷۲/۱۶±۵/۸۴	۷۲/۱۶±۵/۸۴	۷۲/۱۶±۵/۸۴
	پس‌آزمون	۷۹/۷۷±۵/۰۶ †##	۷۶/۳۳±۲/۵۰ †##	۸۳/۲۵±۲/۳۱ †##	۷۰/۵۵±۳/۹۰
فاصله بافت اسفنجی (میکرون)	پیش‌آزمون	۱۷/۸۳±۳/۷۱	۱۷/۸۳±۳/۷۱	۱۷/۸۳±۳/۷۱	۱۷/۸۳±۳/۷۱
	پس‌آزمون	۳۰/۸۸±۸/۶۳ †##	۲۳/۷۵±۴/۶۸ †##	۳۴/۱۱±۳/۸۸ †##	۱۱/۸۸±۱/۵۳ †

\* داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. # نشانه اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه کنترل † نشانه اختلاف معنی دار در مقایسه با مرحله پیش‌آزمون ‡ نشانه اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه ترکیبی † نشانه اختلاف معنی دار در مقایسه با مرحله پیش‌آزمون

## بحث و نتیجه‌گیری

مهم‌ترین ویژگی پژوهش حاضر، مطالعه اثر تعاملی ورزش و مکمل کلسیم بر برخی شاخص‌های هیستومورفومتری (ضخامت و حجم استخوان اسفنجی و استخوان غشایی یا فاصله بافت اسفنجی) ناحیه اپی فیز نزدیک استخوان درشت‌نی در موش‌های بدون تخمدان است. نتایج مقدماتی تحقیق حاضر نشان می‌دهد فاصله، حجم و ضخامت بافت اسفنجی ۳ ماه پس از

برداشتن تخمدان کاهش معنی‌دار داشته، در حالی که حجم و ضخامت بافت استخوانی غشایی کاهش اندک غیر معنی‌دار را نشان می‌دهد که این می‌تواند به دلیل کاهش چگالی استخوان و در نتیجه، پوکی استخوان باشد. کلارک و همکاران (۱۹۹۶) در پژوهشی تغییرات هیستومورفومتری استخوان را در مردان مسن بررسی کردند و کاهش ۴۰ درصدی حجم و فاصله استخوان اسفنجی را بین سنین ۲۰ تا ۸۰ سالگی مشاهده کردند که هم‌سو با یافته‌های تحقیق حاضر است (۲۴). به‌علاوه، این محققان گزارش دادند در مردان نیز همانند زنان، سرعت از دست رفتن استخوان اسفنجی بیش از استخوان غشایی است که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌سو است. پنگ و همکاران (۱۹۹۹) نیز گزارش دادند برداشتن تخمدان ویژگی‌های ساختاری و مکانیکی استخوان را شش هفته بعد از عمل جراحی تغییر می‌دهد. همچنین چگالی مواد معدنی استخوان غشایی به اندازه بافت اسفنجی تحت تأثیر برداشتن تخمدان قرار نمی‌گیرد، اما بافت استخوانی اسفنجی به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد (۲۵). یافته‌های این محققان نشان می‌دهد، شش هفته برداشتن تخمدان اثر قابل توجهی بر استخوان غشایی موش‌های ۸ هفته‌ای ندارد و از دست رفتن چگالی مواد معدنی استخوان اساساً در استخوان اسفنجی رخ می‌دهد (۲۵). یافته‌های مقدماتی این پژوهش، نتایج حاصل از مطالعات قبلی را درباره ارتباط بین برداشتن تخمدان و یائسگی با پوکی استخوان، تایید می‌کند (۵، ۸، ۲۵).

نتیجه این تحقیق نشان می‌دهد کاهش شاخص‌های هیستومورفومتری هر دو نوع بافت استخوانی، به‌ویژه بافت اسفنجی، که در اثر برداشتن تخمدان در اپی‌فیز نزدیک درشت‌نی رخ می‌دهد، تحت تأثیر هشت هفته تمرین تحمل وزن (دو استقامتی روی نوارگردان) مهار می‌شود. به‌علاوه، این تمرین اثرات بازگرداننده نیز بر توده استخوانی دارد. از سوی دیگر، روند کاهش ناشی از برداشتن تخمدان بر میزان شاخص‌های فوق، در گروه کنترل ادامه داشته که البته این کاهش فقط در مورد فاصله و ضخامت بافت استخوانی اسفنجی معنی‌دار بود. پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد تمرین اثر مثبتی بر ساختار استخوان دارد (۵، ۶) و مشخص شده است که ورزش‌های تحمل وزن برای چگالی مواد معدنی در انسان‌ها (۲۶) و حیوانات (۲۷) اثرات سودمندی دارند. در حیوانات، نشان داده شد تمرین شنا (۲۸) و دویدن روی نوارگردان (۲۷) باعث بهبود شاخص‌های هیستومورفومتری استخوان، محتوای مواد معدنی استخوان و استحکام مکانیکی آن می‌شود. تمرینات تحمل وزن، متداول‌ترین روش برای تحریک هایپرتروفی استخوانی و افزایش چگالی استخوان به شمار می‌رود (۱۷) و اگرچه بیشتر صاحب‌نظران بر نقش تمرینات تحمل وزن، به‌ویژه تمرینات مقاومتی صحنه گذاشتند، اما وارنر و همکاران (۲۰۰۶) متذکر شدند این احتمال وجود دارد که تمرینات با عدم تحمل وزن نیز اثرات



سودمندی بر استخوان داشته باشند و این موضوع به دلیل محدودیت‌های طرح مطالعاتی، سوگیری انتخاب و تکنولوژی ارزیابی غیرتهاجمی استخوان در انسان‌ها دیده نشده است (۲۶). از این رو، این محققان در پژوهشی به مقایسه تمرینات با تحمل وزن و بدون تحمل وزن بر شاخص‌های هیستومورفومتری استخوان‌های بازو و ران موش‌ها پرداختند و نشان دادند که شنا موجب می‌شود ضخامت استخوان غشایی بخش میانی تنه این استخوان‌ها و حجم بافت استخوان اسفنجی در اپی‌فیز پایینی ران و اپی‌فیز نزدیک بازو افزایش یابد. به علاوه، شنا بیش از دویدن روی نوارگردان شیب‌دار، حجم بافت اسفنجی را افزایش می‌دهد. با توجه به این که تفاوت اندکی بین تمرین شنا و دویدن در موش‌ها مشاهده شد، وارنر پیشنهاد کرد که ممکن است تغییرات استخوان‌سازی حاصل از انقباضات عضلانی به هنگام شنا، دلیل بهبود ویژگی‌های استخوانی مرتبط با شنا باشد. این یافته‌ها نشان می‌دهد تمرینات تحمل وزن ممکن است تنها عامل حساس بارگیری مکانیکی برای پاسخ استخوان به ورزش نباشد (۲۶). گزارش برخی محققان دیگر نیز حاکی از آن است که تماس با زمین و همچنین انقباض عضلانی، به لحاظ مکانیکی باعث اعمال بار (فشار) روی استخوان و در نتیجه تغییر شکل (کشش) آن می‌شوند. از آنجا که استخوان‌ها نمی‌توانند علت استرین را حس کنند، این احتمال وجود دارد که کشش‌های ناشی از انقباضات عضلانی روی استخوان، به اندازه نیروی عکس‌العمل زمین در حفظ هموستاز استخوان اثربخش باشد (۲۵، ۲۶). هرچند مشخص شده ویژگی‌های بارگیری از قبیل: تعداد، میزان، جهت و بزرگی چرخه بارگیری برای سازگاری استخوان ضروری هستند (۱۶)، اما به‌طور کلی فشار مکانیکی بر استخوان باعث تغییر شکل انواع بافت استخوانی در درون استخوان می‌شود که استخوان را تحریک می‌کند تا با شکل‌گیری مجدد با این نیازهای جدید سازش یابد و سرانجام باعث مقاومت در برابر شکستگی در استخوان شود (۲۶). با این وجود، نتیجه پژوهش حاضر نشان داد تمرین از تغییرات منفی ناشی از برداشتن تخمدان بر توده استخوان اپی‌فیز نزدیک درشت‌نی جلوگیری می‌کند و به‌خصوص بر فاصله و ضخامت بافت اسفنجی آن تأثیر گذاشته، تا حدی باعث بهبود این شاخص‌ها نیز می‌شود.

موضوع دیگری که در این تحقیق مشخص شد این است که مصرف مکمل کلسیم به مدت هشت هفته، باعث افزایش معنی‌دار ضخامت و حجم بافت استخوانی غشایی و اسفنجی و همچنین فاصله استخوان اسفنجی در مقایسه با گروه کنترل شد. به‌علاوه، اثر بخشی ترکیبی کلسیم و تمرین استقامتی بر شاخص‌های هیستومورفومتری به مراتب بیشتر از تأثیر مجزای هر یک از آنها بوده است، به‌گونه‌ای که هرچند در کل، اثربخشی اجرای هشت هفته تمرین بیشتر از مکمل بوده، اما تفاوت معنی‌داری بین این دو مداخله مشاهده نشده است. از سوی

دیگر، تفاوت قابل توجهی بین ضخامت استخوان غشایی و اسفنجی و همچنین فاصله و حجم بافت اسفنجی گروه کلسیم در مقایسه با گروه ترکیبی مشاهده شده است، اما تنها ضخامت استخوان اسفنجی گروه تمرینی در مقایسه با گروه ترکیبی به لحاظ آماری معنی دار بوده است. این یافته، نقش انکارناپذیر تمرین تحمل وزن را بر استخوان نشان می‌دهد. هرچند مطالعات کمتری اثر ترکیبی این دو عامل (۱۸، ۲۰، ۲۱، ۳۰) را بر چگالی مواد معدنی استخوان بررسی کردند، اما نشان داده شده ورزش در روند رشد، به طور موضعی بر فرآیند شکل‌گیری استخوان در نواحی تحت بارگیری، تاثیر می‌گذارد، در حالی که اعتقاد بر این است که کلسیم به طور نظام‌مند در شکل‌گیری مجدد استخوان مؤثر است. از این رو، به نظر می‌رسد ورزش و کلسیم در فرآیند استخوان‌سازی به هم وابسته‌اند (۱۸). برخی گزارش‌های پژوهشی حاکی از آن است که ورزش استقامتی با شدت متوسط باعث افزایش نشانه‌های برگشت کلاژن استخوان و تغییر هموستاز کلسیم در افراد بالغ جوان و زنان سالمند می‌شود (۱۷). مصرف اندک کلسیم از طریق تغذیه ممکن است پاسخ‌سازی استخوان را به بارگیری ناشی از ورزش، به حداقل برساند. در مقابل، مصرف مقادیر زیاد کلسیم ممکن است اثر ورزش را در نواحی تحت بار، افزایش دهد (۲۰، ۲۱).

یافته‌های پژوهش حاضر و معدود مطالعات دیگر (۱۸) نشان می‌دهد ترکیب تمرین و کلسیم، در مقایسه با استفاده مجزا از آنها، فواید بیشتری برای استخوان دارد. این نتیجه، بیش از پیش بر نقش قابل توجه تغذیه سالم بر شاخص‌های هیستومورفومتری استخوان تاکید می‌کند. در مقابل، برخی مداخله‌های ورزشی در کودکان، یا هیچ اثری نداشتند یا فواید اندک یک درصدی را به همراه داشتند که اغلب به نواحی خاصی از قبیل تروکانتر محدود می‌شود (۳۱). به هر حال، دلیل اینکه ترکیب تمرین و کلسیم، نسبت به هریک از این عوامل به تنهایی، به اثر استخوان‌سازی بیشتری منجر می‌شود، با قطعیت مشخص نشده است. استخوان‌اندازی پویاست که توده و ساختارش را با استرین وارد حاصل از بارهای خارجی سازگار می‌کند. رشد طولی استخوان باعث افزایش بازوهای اهرمی و گشتاور خمشی می‌شود که به نوبه خود باعث اعمال بارهای بیشتر بر استخوان، به هنگام ورزش می‌شود (۳۱). در نتیجه، استخوان‌ها به‌طور مداوم برای سازگاری با افزایش طول استخوان و نیروهای عضلانی مرتبط با افزایش توده عضلانی و بلوغ عصبی رقابت می‌کنند؛ بنابراین، استخوان برای حفظ کشش (استرین) در دامنه آستانه، برای شکل‌گیری استخوان یا شکل‌گیری مجدد آن، به طور دائم قدرتش را تطبیق می‌دهد (۱۸). افزایش بارگیری استخوان در حال رشد علاوه بر این که می‌تواند شکل‌گیری

استخوان را تحریک کند، از طریق تغییر شکل استخوان غشایی و افزایش محتوای مواد معدنی استخوان اسفنجی (ضخامت استخوان اسفنجی) نیز می‌تواند باعث افزایش استحکام استخوان شود (۳۲). یافته‌های تحقیق حاضر نیز مؤید افزایش استحکام (قدرت) استخوان، به دنبال تمرین تحمل وزن روی نوارگردان، در مقایسه با گروه کنترل بود، در حالی که برداشتن تخمدان باعث کاهش قابل توجه استحکام استخوان درشت‌نی در گروه کنترل شده است (اطلاعات گزارش نشده است). از سوی دیگر، کلسیم ماده ساختمانی اصلی استخوان است و باعث تغییر ویژگی‌های ساختاری (آناتومیکی) استخوان نمی‌شود. دریافت مکمل کلسیم سرعت شکل‌گیری مجدد استخوان را کاهش می‌دهد و بازجذب استخوان را در بافت استخوانی اسفنجی تحت تأثیر قرار می‌دهد و به نظر نمی‌رسد بر شکل‌گیری استخوان اثرگذار باشد (۳۳). با توجه به مکانیسم‌های مختلف تسهیل‌کننده پاسخ استخوان‌سازی به ورزش و کلسیم، هنوز مشخص نیست که چگونه عملکرد ترکیبی فعالیت بدنی و کلسیم تغذیه‌ای باعث ایجاد اثر اضافی یا کمکی بر استخوان می‌شود. دیگر مطالعات انسانی و حیوانی همسو با یافته‌های تحقیق حاضر، نشان می‌دهند ورزش با افزایش جذب کلسیم از امعاء و احشاء همراه است و این که در کودکان و افراد در حال رشد ظرفیت افزایش جذب کلسیم را بهبود می‌بخشد (۳۳، ۳۴). یکی از توجیهات احتمالی این است که استخوان‌سازی (استئوژنیک) حاصل از ورزش، به کلسیم کافی نیاز دارد و از این رو، سازگاری استئوژنیک ممکن است در صورت کافی نبودن کلسیم به مخاطره افتد. برای تعیین این موضوع که چگونه سازگاری استئوژنیک با ورزش ممکن است در اثر کافی نبودن مصرف کلسیم مختل شود، به مطالعات بیشتری نیاز دارد. به‌علاوه، مشخص نیست که این میزان بهبود ضخامت و حجم بافت‌های استخوانی غشایی و اسفنجی در طی دوره طولانی حفظ می‌شود یا خیر و برای بررسی تأثیر ورزش بر بهبود بلند مدت سلامت استخوان در فرآیند رشد به مطالعات بیشتری نیاز است.

به‌طور خلاصه، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد اثربخشی ترکیب تمرین و مکمل کلسیم بر شاخص‌های هیستومورفومتری اپی‌فیز نزدیک استخوان درشت‌نی در موش‌های بدون تخمدان بیشتر از اثر مجزای هر یک از آنهاست. به‌علاوه، در حالی که ممکن است ورزش برای تغییر اندازه و شکل استخوان مهم‌تر باشد، به نظر می‌رسد مکمل کلسیم در به حد مطلوب رساندن اثر ورزشی در جایگاه‌های بارگیری شده، نقش مهمی ایفا می‌کند. از این رو، با تغییرات اندکی در شیوه زندگی می‌توان به فواید اسکلتی دست یافت. هرچند در این پژوهش به برخی سؤالات در زمینه ساختار استخوان پاسخ داده شد، اما هنوز سؤالات فراوانی در این مورد وجود دارد که نیاز به بررسی دارد. چگونه می‌توان فواید حاصل از ورزش را در دوره طولانی‌تر به میزان بیشتری

بهبود بخشید، مبانی ساختاری افزایش محتوای مواد معدنی استخوان چه هستند و اینکه آیا در کاهش یا توقف کامل ورزش، فواید حاصله حفظ خواهد شد؟

### منابع:

1. Storm, D., Rebekah, E., Eileen, S., Katherine, M., Donald, V., Christine, P., Cathy, K., Subburaman, M., Taichen, M. F. H., Clifford, J.R. (1998). Calcium supplementation Prevents Seasonal Bone Loss and Changes in Biochemical Markers of Bone Turnover in Elderly New England Women: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88(11): 3817-3825.
2. Haworth, C.S., Webb, A.K., Egan, J.J., Selby, P.L., Hasleton, P.S., Bishop, P.W., Freemont, T.J. (2000). Bone Histomorphometry in Adult Patients With Cystic Fibrosis. *Chest*, 118: 434-439.
3. Mullender, M.G., Tan, S.D., Vico, L., Alexandre, C., Klein-Nulend, J. (2005). Differences in osteocyte density and bone histomorphometry between men and women and between healthy and osteoporotic subjects. *Calcified Tissue International*, 77 (5): 291- 296
4. Haworth, C.S., Webb, A.K., Egan, J.J., Selby, P.L., Hasleton, P.S., Bishop, P.W., Freemont, T.J. (2000). Bone Histomorphometry in Adult Patients With Cystic Fibrosis. *Chest*, 118: 434-439.
5. Fürst, A., Meier, D., Michel, S., Schmidlin, A., Held, L., Laib, A. (2008). Effect of age on bone mineral density and micro architecture in the radius and tibia of horses: An Xtreme computed tomographic study. *BMC Veterinary Research*, 4 (3):1-12.
6. Schmisch S., Galal, R., Kolios, L., Tezval, M., Dullin, C., Zimmer, S., Stuermer, K.M., Stuermer, E.K. (2009). Effects of low-magnitude, high-frequency mechanical stimulation in the rat osteopenia model. *Osteoporos Int DOI*, 10.1007/s00198-009-0892-3.
7. Recker, R.R., Bare, S.P., Smith, S.Y., Varela, A., Miller, M.A., Morris, S.A., Fox, J. (2009). Cancellous and cortical bone architecture and turnover at the iliac crest of postmenopausal osteoporotic women treated with parathyroid hormone 1-84. *Bone*, 44 (1): 113-119.
8. Warner, S.E., Sanford, D.A., Becker, B.A., Bain, S.D., Srinivasan, S., Gross, T.S. (2006). Botox induced muscle paralysis rapidly degrades bone. *Bone*, 38: 257-264.
9. Arens, D., Ilonka, S., Mauro, A., Peter, S., Erich, S., Marcus, E. (2007). Seasonal changes in bone metabolism in sheep. *The Veterinary Journal*, 174: 585-591.

10. Vondracek, S.F., Hansen, L.B., McDermott, M.T. (2009). Osteoporosis risk in premenopausal women. *Pharmacotherapy*, 29 (3): 305-17.
11. Charoenphandhu, N., Tudpor, K., Thongchote, K., Saengamnat, W., Puntheeranurak, S., Krishnamra1, N. (2007). High-calcium diet modulates effects of long-term prolactin exposure on the cortical bone calcium content in ovariectomized rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 292: E443–E452.
12. Curtiss, D.H., Stoecker, B. J. (2008). Adequate dietary calcium restores vertebral trabecular bone microarchitecture and strength and improves femur calcium concentration following calcium depletion in young female rats. *The FASEB Journal*, 22: 883.1.
13. Fazzalariab, N.L., Sutton-Smithab, P., Kuliwa, B.J.S., Phippsc, R.J., Parkinsonab, H., badieiab A. (2008). Calcium density of bone correlates with trabecular bone Architecture. *Bone*, 42 (Supplement1): S49-S50.
14. Ding, M., Hvid, I. (2000). Quantification of age-related changes in the structure model type and trabecular thickness of human tibial cancellous bone. *Bone*, 26: 291-295.
15. Yingling, V.R, Xiang, Y., Raphan, T., Schaffler, M., Koser, K., Malique, R. (2007). The effect of a short-term delay of puberty on trabecular bone mass and structure in female rats: A texture-based and histomorphometric analysis. *Bone*, 40 (2): 419–424.
16. Huang, T.H., Lin, S.C., Chang, F.L., Hsieh, S.S., Liu, S.H., Yang, R.S. (2003). Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone. *J Appl Physiol*, 95: 300-307.
17. Yeh, J.K., Niu, Q., Evans, J.F., Iwamoto, J., Aloia, J.F. (2001). Effect of circular motion exercise on bone modeling and bone mass in young rats: An animal model of isometric exercise. *J Musculoskel Neuron Interact*, 1 (3): 235-240.
18. Bass, S.L, Naughton, G., Saxon, L., Iuliano-Burns, S., Daly, R., Briganti, E.M., Hume, C., Nowson, C. (2007). Exercise and Calcium Combined Results in a Greater Osteogenic Effect Than Either Factor Alone: A Blinded Randomized Placebo-Controlled Trial in Boys. *Journal of Bone and Mineral Research*, 22 (3): 458-464.
19. Welch, J.M., Weaver, C.M. (2005). Calcium and exercise affect the growing skeleton. *Nutr Rev*, 63(11): 361-73.
20. Iuliano-Burns, S., Saxon, L., Naughton, G., Gibbons, K., Bass, S.L. (2003). Regional specificity of exercise and calcium during skeletal growth in girls: A randomized controlled trial. *J Bone Miner Res*, 18: 156–162.
21. Specker, B., Binkley, T. (2003). Randomized trial of physical activity and calcium supplementation on bone mineral content in 3- to 5-year-old children. *J Bone Miner Res*, 18: 885–892.

22. Lower, J.M., Powers, S.K., Hammern, J., Martin, A.D.(1993). oxygen cost of treadmill running in 24- month- old fischer-344 rats. *Med.Sci.Sports.Exerc*, 25 (11): 1259-1264.
23. Bedford, T.G., Tipton, C.M, Wilson, N.C, OPPLIGER, R.A, Gisolfi, C.V. (1979). Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures.j. *appls. Physiol:respire. Environ. Exercise physiol*, 47 (6): 1278-1283.
24. Clarke, B., Ebeling, P.R., Jones, J.D., Wahner, H.W., O'fallon, W.M., Riggs, B.L., Fitzpatrick, L.A. (1996). Changes in Quantitative Bone Histomorphometry in Aging Healthy Men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 81 (6): 2264-2270.
25. Peng, Z.Q., Vaananen, H.K., Tuukkanen, J. (1999). Ovariectomy- induced bone loss can be affected by different intensities of treadmill running exercise in rats. *Calcif Tissue Int*, 60 (5): 441-448.
26. Warner, S.E., Shea, J.E., Miller, S.C., Shaw, J.M. (2006). Adaptations in Cortical and Trabecular Bone in Response to Mechanical Loading with and without Weight Bearing. *Calcif Tissue Int*, 79: 395-403.
27. Iwamoto, J., Takeda, T., Ichimura, S. (1998). Effect of exercise on tibial and lumbar vertebral bone mass in mature osteopenic rats: bone histomorphometry study. *J Orthop Sci*, 3: 257-263.
28. Hart, K.J., Shaw, J.M., Vajda, E., Hegsted, M., Miller, S.C. (2001). Swim-trained rats have greater bone mass, density, strength, and dynamics. *J Appl Physiol*, 91: 1663-1668.
29. Ianc, D., Serbescu, C., Bembea, M., Benhamou, L., Lespessailles, E., Courteix, D.(2006). Effects of an exercise program and a calcium supplementation on bone children:A randomized control trial: *International. Journal of Sport and Exercise Metabolism*, 16: 580-596.
30. Stear, S.J., Prentice, A., Jones, S.C., Cole, T.J. (2003). Effect of a calcium and exercise intervention on the bone mineral status of 16-18-y-old adolescent girls. *Am J Clin Nutr*, 77: 985-992.
31. Rauch, F., Schoenau, E. (2001). The developing bone: Slave or master of its cells and molecules? *Pediatr Res*, 50: 309-314.
32. Bass, S.L., Saxon, L., Daly, R.M., Turner, C.H., Robling, A.G., Seeman, E., Stuckey, S. (2002). The effect of mechanical loading on the size and shape of bone in pre-peri- and postpubertal girls: A study in tennis players. *J Bone Miner Res*, 17: 2274-2280.
33. Zittermann, A., Sabatschus, O., Jantzen, S., Platen, P., Danz, A., Dimitriou, T., Scheld, K., Klein, K., Stehle, P. (2000). Exercise-trained young men have higher

calcium absorption rates and plasma calcitriol levels compared with age-matched sedentary controls. *Calcif Tissue Int*, 67: 215–219.

34. Zittermann, A., Sabatschus, O., Jantzen, S., Platen, P., Danz, A., Stehle, P. (2002). Evidence for an acute rise of intestinal calcium absorption in response to aerobic exercise. *Eur J Nutr*, 45: 189–196.

Archive of SID