دانشگاه شهید بهشتی
فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
بهار و تابستان ۱۳۹۷، دوره ۱۱، شماره ۱، صفحه‌های: ۲۸-۱۳

تأثیر تمرینات استقامتی و مکمل آهن بر برخی از نشانگرهای تنفس سلولی در موش‌های صحرایی نر

محمدعلی سمواتی شریف[۱]*، علی‌اصغر رواسی[۲]، محمدرضا کردی[۲]، باقر مینایی[۳]، حجت‌الله سیاوشی[۴]

[۱] دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

[۲] دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، ایران

[۳] دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

[۴] پژوهشکده طب ورزشی، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۹۴/۵/۱۱ اصلاح مقاله: ۹۶/۳/۶ پذیرش مقاله: ۹۶/۶/۱۲

هدف: آهن، نقش مهمی در انتقال اکسیژن، آنزیم‌های زنجیره تنفسی میتوکندریایی، و فسفوریلاسیون اکسایشی دارد؛ بنابراین کاهش آهن می‌تواند تأثیر منفی بر عملکرد اکسایشی ورزشکاران بگذارد. هدف این پژوهش، بررسی اثرات برنامه‌های ورزشی استقامتی و مکمل آهن بر برخی از نشانگرهای تنفس سلولی در موش‌های صحرایی نر است.

روش‌ها: چهل سر موش صحرایی نر ویستار به چهار گروه تقسیم شدند. گروه تجربی I برنامه ورزشی استقامتی را به مدت ۱۲ هفته روی نوارگردان انجام می‌دادند (با شدت ۳۲ متر در دقیقه، ۶۰ دقیقه در هر جلسه و ۵ جلسه در هفته) (T). گروه تجربی II با همان برنامه، روزانه ۸۰۰ میکروگرم مکمل آهن (سولفات فرو) دریافت می‌کردند (Ti). گروه کنترل C بدون تمرین بودند (S) و گروه تجربی III بدون تمرین اما روزانه ۸۰۰ میکروگرم مکمل آهن دریافت می‌کردند (Si). پس از ۱۲ هفته نمونه‌های خونی و بافت عضلانی بررسی شدند. داده‌ها توسط تحلیل واریانس یک‌سویه و کروسکال-والیس تحلیل شدند ($P<۰/۰۵$).

نتایج: غلظت فریتین خون تنها در گروه تجربی I و وزن مطلق عضله نعلی و غلظت سیتوکروم اکسیداز تنها در گروه تجربی II نسبت به دیگر گروه‌ها معنادار بود ($p<۰/۰۵$). همچنین، هایپرتروفی عضلانی، چگالی شبکه مویرگی، و چگالی میتوکندریایی گروه‌های تجربی I و II با گروه کنترل و گروه تجربی III تفاوت معناداری داشتند ($p<۰/۰۵$)؛ اما این اختلاف‌ها در بین هر دو گروه‌های تجربی I و II معنادار نبودند. با وجود این، توده‌ی بدنی، وزن نسبی عضله نعلی و اکسیژن مصرفی بیشینه موش‌های گروه تجربی تفاوت معناداری هم با گروه کنترل و هم در بین گروه‌های تجربی با یکدیگر داشتند ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که مصرف مکمل آهن همراه با ورزش ممکن است موجب بهبود برخی از شاخص‌های تنفس سلولی، هایپرتروفی، و ظرفیت هوازی شود؛ درصورتی که، این بهبودها در شرایط بی‌تمرینی احتمالاً به‌وجود نمی‌آیند.

واژه‌های کلیدی: عضله نعلی (سولئوس)، سیتوکروم اکسیداز، فریتین، ظرفیت هوازی، میوگلوبین، میتوکندری.

* نویسنده مسئول: محمدعلی سمواتی شریف، شماره تماس: ۰۹۱۸۸۱۲۴۴۵۶، ایمیل: m-samavati@basu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

برای اولین بار در قرن هفدهم آهن یکی از اجزاء تشکیل‌دهنده بافت بدن شناخته شد. در این دوره مشخص شد که رژیم غذایی نرمال حاوی ۸ تا ۱۱ میلی‌گرم آهن است (۱). پس از آن، آهن که عنصری اصلی در متابولیسم کل موجودات زنده است، به‌عنوان یک ماده مغذی ضروری که در تغذیه نقش حیاتی دارد، معرفی شد (۲). این آهن شامل آهن (هِم)[1] در هموگلوبین، میوگلوبین و سیتوکروم‌ها و همچنین آهن غیرهِم است که در غذاهای گیاهی پیدا می‌شود (۳). آهن هِم به‌عنوان آهن عملکردی برای ظرفیت اتصال اکسیژن به گلبول قرمز و انتقال آن به درون بافت‌ها و همچنین در انتقال الکترون‌ها در چرخه کربس و زنجیره انتقال الکترونی اهمیت دارد (۴ و ۵). از وظایف مهم آهن غیرهِم، کاتالیز و تبدیل بتاکاروتن به ویتامین A، سنتز پورین‌ها که قسمت عمده‌ای از اسید نوکلوئیدها را تشکیل می‌دهند، برداشتن لیپیدهای خون، سنتز کلاژن و تولید پادتن و ضدسم‌سازی داروها در کبد است (۶). نتایج بررسی آزمایشگاهی در حیوانات، (در مورد فقر آهن) نشان می‌دهد، اکثر موش‌هایی که در گروه‌های آنمی قرار دارند، کمترین ظرفیت هوازی را داشته‌اند (۷). دیگر محققان پژوهش‌های خود را بر تغییرات آهن بر سایر پارامترهای ساختار سلولی متمرکز کرده‌اند. آنها نشان دادند در ساختمان آنزیم‌های بافتی مقدار کمی آهن وجود دارد که نقش مهمی در متابولیسم و تولید انرژی دارند (۸). به‌طور نمونه، سیتوکروم‌های موجود در زنجیره تنفسی، ذخیره انرژی را از طریق اکسیداسیون و احیاء آهن (Fe^{+2}-Fe^{+3}) مهیا می‌کنند (۸). بنابراین کمبود آهن قبل از اینکه بر میزان هموگلوبین خون تأثیر داشته باشد، در آنزیم‌های میتوکندریایی مؤثر است (۱ و ۶). متعاقب چنین یافته‌هایی برخی از پژوهشگران نشان دادند، کمبود آهن منجر به کاهش قابل‌توجه آنزیم‌های میتوکندری و همچنین سیتوکروم C آزمودنی‌ها می‌شود. درحالی‌که مکمل آهن، فعالیت آنزیم سیتوکروم C (۳۵ درصد) و آنزیم‌های چرخه کربس (۱۵ درصد) را افزایش می‌دهد (۹ و ۱۰). با توجه به مطالب فوق هرگاه دستگاه میتوکندری تحت‌تأثیر عواملی مثل فقر آهن قرار گیرند، دستگاه، دچار اختلال در روند تولید انرژی می‌شود. این مسئله موجب تجمع متابولیت‌ها و کاهش عملکرد کار و حتی مرگ سلول می‌شود (۱۱). اگرچه فقط یک درصد آهن کل بدن به سازوکار آنزیم‌های اکسایشی نسبت داده می‌شود؛ اما کاهش در این مقدار، می‌تواند تأثیر منفی روی عملکرد اکسایشی ورزشکاران بگذارد (۶). به‌عنوان نمونه، پژوهش‌های بسیاری نشان داده‌اند که آنزیم‌های حاوی آهن مثل پیروات اکسیداز و مالتات اکسیداز تا ۳۵ درصد و گروه‌های سولفات آهن (Fe-s) و سیتوکروم‌های میتوکندری حدود ۵۰ تا ۶۰ درصد در پی افت مقادیر آهن کاهش داشته است (۱۰).

آنچه که ظاهراً تعیین‌کننده مقدار آهن بافت است، میزان پروتئین‌های حاوی آهن است. به‌عنوان‌نمونه، بررسی‌های برخی از پژوهشگران نشان داد، کاهش عملکرد ناشی از فقر آهن بیشتر به خاطر تغییرات زیست‌شیمیایی غیرهموگلوبین است (۹). همچنین منشیکوا و دیگران ، دریافتند تمرینات طولانی و ملایم برخلاف تمرینات شدید افزایش قابل‌توجهی در چگالی میتوکندری و فعالیت آنزیم‌های زنجیره انتقال الکترونی و چرخه اسید تری‌کربوکسیلیک آزمودنی‌های زن و مرد به وجود آورد (۱۲). همچنین، بلاینی و دیگران، و والتر و همکاران نیز نشان دادند موش‌هایی که فقر آهن دارند، نسبت به موش‌هایی که روزانه مکمل آهن دریافت می‌کنند، کاهش قابل‌توجهی در وزن بدن، کارایی سلول‌های عضلانی، چگالی میتوکندری و فعالیت سیتوکروم‌ها دارند (۳ و ۱۳). همچنین، برخی از پژوهش‌ها گزارش داده‌اند که فعالیت آنزیم‌های میتوکندری ازجمله، سیتوکروم‌های C، مقدار آهن و

www.SID.ir

Archive of SID

میوگلوبین در عضلات کندانقباض و تندانقباض نوع II_a اندام تحتانی موش‌هایی که کمبود آهن داشتند، نسبت به موش‌هایی که مکمل آهن به رژیم غذایی آنها اضافه می‌شد، کاهش قابل‌توجهی داشته است (۱۰ و ۱۱).

تمرینات هوازی و استقامتی به‌دلیل تولید انرژی از طریق مسیرهای هوازی و نوسازی ATP درون‌عضلانی و تغییر نسبت ATP/ADP منجر به تولید AMP توسط آنزیم آدنیلات‌سیکلاز می‌شوند که AMP نیز به نوبه خود سبب تولید cAMP و فعال شدن آشارها و مسیرهای پیام‌رسان ویژه خود و نیز فعال کردن کینازهای وابسته به AMP همچون پروتئین‌کیناز فعال‌شده با AMP (AMPK) می‌شود همچنین مسیرهای تولید بی‌هوازی انرژی منجر به افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و فعال کردن عامل کاپا B هسته‌ای و فعال کردن فعال‌کننده پروتئین ۱ و افزایش بیان ژن‌های PGC1α و عامل رونویسی تنفسی هسته‌ای-۱ (NRF-1) و در پی آن افزایش میزان بیوژنز میتوکندریایی می‌شود؛ همچنین، انقباضات شدید ماهیچه‌های اسکلتی سبب ایجاد کشش در عضلات و فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ مکانیکی درون‌سلولی و افزایش متابولیسم و تجزیه سوبستراهای درون‌سلولی می‌شوند که از جمله آنها می‌توان به تغییر نفوذپذیری غشای ماهیچه‌ها در اثر کشش عضلانی و ورود کلسیم به درون سلول‌ها و فعال کردن پروتئین‌کینازهای وابسته به کلسیم مانند پروتئین‌کیناز وابسته به کلسیم/کالمادولین (CaMK)[۲]، پروتئین‌کیناز C (CPK)، و کلسی‌نورین[۳] اشاره کرد (۹ و ۱۱).

از سوی دیگر، این پدیده نیز کاملاً بدیهی است که افزایش چگالی میتوکندریایی و چگالی شبکه مویرگی، منجر به افزایش انجام فعالیت‌های ورزشی با شدت و مدت بیشتری می‌شود و بنابراین سبب افزایش توان هوازی و اکسیژن مصرفی افراد می‌شود؛ و از سوی دیگر نیز این پدیده روشن است که یکی از اجزای سازنده میوگلوبین و نیز آنزیم‌های درون میتوکندری، آهن است و بنابراین، افزایش میزان سنتز میوگلوبین و میتوکندری موجب افزایش میزان نیاز بدن به دریافت آهن می‌شود (۱۴).

بنابراین، ممکن است چنین دیدگاهی به وجود آید که مصرف مکمل‌های آهن در ورزشکاران می‌تواند سودمند باشد یا اینکه مصرف رژیم‌های غذایی و مکمل‌های دارای آهن در دوران تمرینات ورزشی و یا مسابقات می‌تواند مفید باشد، یا اینکه، چنین پرسش‌هایی ممکن است به ذهن آید که آیا دسترسی به آهن، سنتز هموگلوبین را طی ورزش افزایش می‌دهد؟ یا آیا مکمل‌های آهن می‌توانند عملکرد بدنی ورزشکاران را بهبود دهند؟ با وجود این، پیامدهای کاربردی فقر آهن در ورزشکاران به‌درستی مشخص نشده است. بیشتر پژوهش‌ها تأثیر مکمل آهن را به‌تنهایی بررسی کرده‌اند (۱۰) و کمتر پژوهشی این اثرات را در پی برنامه‌های ورزشی بررسی کرده است (۹). برخی پژوهش‌ها نیز این رابطه را به‌طور معکوس بررسی کرده‌اند یعنی اثرات برنامه‌های ورزشی را بر میزان فقر آهن و کم‌خونی بررسی کرده‌اند (۱۵). همچنین برخی از پژوهش‌ها اثرات کمبود آهن را بدون ارزیابی و اندازه‌گیری ظرفیت هوازی و اکسیژن مصرفی (به‌عنوان یک عامل عملکردی) بررسی کرده‌اند (۱۶) و پژوهش‌هایی هم که ظرفیت هوازی و اکسیژن مصرفی را سنجیده‌اند، فاقد ارزیابی در مورد میزان آهن بدن بودند (۱۷). همچنین برخی از پژوهش‌ها، تغییرات مورفولوژیکی و زیستی حاصل از تمرینات شدید را در ورزشکاران نشان داده‌اند. به‌عبارت بهتر، در این پژوهش‌ها اثرات کوتاه‌مدت و شدید برنامه‌های ورزشی بررسی شده‌اند (۱۳)، به‌طوری که کمبود آهن منجر به کاهش فرایند متابولیکی دستگاه انتقال دهنده‌های عصبی، سنتز پروتئین‌ها و دیگر عوامل وابسته به آن شده است (۱ و ۱۳). به‌هرحال، هرچند توضیح زیستی کمبود آهن به‌طور کامل ممکن نیست، مشخص کردن اینکه آیا تمرینات شدید و درازمدت ورزشی منجر به تعادل منفی آهن در بافت‌ها می‌شود، یا اینکه چنین تمریناتی برای عملکرد یا سلامتی ورزشکاران زیان‌بار است یا خیر، اهمیت زیادی دارد.

بنابراین و با توجه به مطالبی که ذکر شد هدف

www.SID.ir

Archive of SID

اصلی در این پژوهش، تعیین این مسئله است که آیا تمرینات استقامتی شدید به مدت ۱۲ هفته باعث فقر آهن و تغییر در پارامترهای تنفس سلولی و ساختارهای عضلانی موش‌های نر صحرایی می‌شود؟ و در صورت چنین تغییراتی آیا مکمل آهن به مقدار ۰/۸ میلی‌گرم در روز طی اجرای برنامه تمرینی منجر به تعادل مثبت آهن و بهبود احتمالی ساختارهای عضله نعلی می‌شود؟

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش

در این پژوهش که از نوع تجربی چهارگروهی و آزمایشگاهی بود ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار[۴] ۲/۵ ماهه با میانگین وزن ۸/۵۴±۲۱۵/۰۵ گرم از انستیتو پاستور ایران انتخاب و پس از انتقال به دانشکده‌ی تربیت‌بدنی دانشگاه تهران به مدت ۲ هفته با محیط و نحوه دویدن روی نوارگردان ویژه جوندگان آشنا شدند و پس از این مدت توسط ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم ساخت ژاپن[۵] وزن‌کشی شده و به‌صورت تصادفی ساده به چهار گروه یکسان تقسیم شدند.

برای نگهداری حیوانات، از قفس‌های انفرادی از مواد شیمیایی از جنس پلی‌کربنات[۶] شفاف با قابلیت آتوکلاو[۷]، ساخت شرکت رازی استفاده شد. برای جذب ادرار و مدفوع حیوانات و همچنین راحتی آنها از تراشه و بریده‌های چوب استریل استفاده شد. هر دو روز یک بار شست‌وشوی قفس‌ها انجام می‌شد و تراشه‌های چوب نیز تعویض می‌شد؛ دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات حدود ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی نیز حدود ۵۵- ۶۵ درصد کنترل و ثبت می‌شد. چرخه روشنایی-تاریکی (۱۲: ۱۲ ساعت) دقیقا رعایت می‌شد. برای حفظ دما از سه دستگاه کولر آبی که در تمام شبانه‌روز کار می‌کردند، استفاده می‌شد. برای رطوبت مناسب کف سالن خیس می‌شد. برای کنترل دما و رطوبت نسبی هوا از دستگاه دماسنج و رطوبت‌سنج ساخت شرکت آلمانی گرون پونکت[۸] استفاده شد. برای تهویه هوا و جلوگیری از بیماری‌های تنفسی حیوانات و دفع آلاینده‌ها و جلوگیری از تجمع آمونیاک حاصل از ادرار حیوانات و جریان هوای سالم در محیط آزمایشگاه، از دو دستگاه تهویه بدون صدا استفاده می‌شد. این دستگاه‌ها در تمام مدت شبانه‌روز کار می‌کردند؛ غذای حیوانات به‌صورت پلت[۹] و به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن موش‌ها (توزین توسط ترازوی شرکت A&D ژاپن)، ۱۰ گرم پلت به‌صورت آزاد در قفس‌های آنان قرار می‌گرفت و روزانه ۱۰ تا ۱۲ میلی‌لیتر آب نیز به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، در بطری‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آنان قرار می‌گرفت (۱۸).

در این پژوهش، سعی شد تا حیوانات در کمترین زمان ممکن و با حداقل درد و آزار، با استفاده از شیوه‌های مناسب آسان‌کشی، کشته و جراحی شوند. برای بررسی شاخص‌های هماتولوژی خون حیوانات لازم بود و باید به قدر کافی از حیوان خون گرفته می‌شد. بدین منظور با بررسی انواع روش‌های آسان‌کشی و مشاوره با متخصصان جراح، تصمیم گرفته شد تا با بیهوش کردن آزمودنی‌ها، عمل جراحی و نمونه‌برداری از حیوانات صورت گیرد. عملیات جراحی و آسان‌کشی در این تحقیق بدین شکل بود که ابتدا حیوانات در دستگاه دیسکاتور که محتوی اِتر بود، قرار می‌گرفتند. بعد از مدت ۲ تا ۳ دقیقه حیوانات بی‌هوش می‌شدند. آنگاه با استفاده از باز کردن قفسه سینه، از قلب آنها خون‌گیری به عمل می‌آمد. با توجه به اهداف تحقیق با قطع تاندون آشیل حیوان، سر ثابت عضله دو قلو به همراه عضله نعلی آنها قطع می‌شد؛ آنگاه با بالا آوردن تاندون آشیل عضله نعلی مشخص و با قطع کردن سر دیگر آن، عضله برداشته می‌شد (۱۸).

پروتکل پژوهش

گروه تجربی I (تمرین استقامتی): به مدت ۱۲ هفته برنامه‌های ورزشی استقامتی منتخب را انجام می‌دادند (T). گروه تجربی II (تمرین استقامتی به‌همراه مکمل‌دهی

www.SID.ir

Archive of SID

آهن): افزون بر انجام ۱۲ هفته برنامه‌های ورزشی استقامتی منتخب، روزانه ۸۰۰ میکروگرم مکمل آهن به‌صورت سولفات فرو دریافت می‌کردند (Ti). بدین‌منظور میزان ۱ میلی‌گرم سولفات فرو (ساخت شرکت داروسازی روزدارو ایران) در ۱۰ سی‌سی آب مقطر حل می‌شد (بدین صورت که آن‌قدر به محلول سولفات فرو آب افزوده می‌شد که حجم محلول به‌دست‌آمده به ۱۰ سی‌سی می‌رسید که در این حالت هر میلی‌لیتر از این محلول دارای ۱۰۰ میکروگرم مکمل آهن سولفات فرو است و سپس از محلول به‌دست‌آمده میزان ۸ میلی‌لیتر (که حاوی ۸۰۰ میکروگرم مکمل آهن است) از طریق گاواژ به موش‌ها داده می‌شد. گروه کنترل C (بدون تمرین و بدون مکمل‌دهی آهن): طی ۱۲ هفته نه تمرینی انجام می‌دادند و نه مکملی مصرف می‌کردند (S). گروه تجربی III (مکمل‌دهی آهن): طی ۱۲ هفته تنها ۸۰۰ میکروگرم روزانه مکمل آهن دریافت می‌کردند (Si).

حیوانات در صبح (ساعت ۸) به تمرین می‌پرداختند و سپس در بعد از ظهر (ساعت ۱۶) گاواژ می‌شدند. میزان دقت گاواژ کردن نیز توسط میکروپیپت اندازه‌گیری شده بود. با وجود این، در این پژوهش به حیواناتی که مکمل دریافت نمی‌کردند، دارونما گاواژ نمی‌شد.

برنامه‌ی ورزشی مورد نظر روی دستگاه نوارگردان ویژه جوندگان، ساخت شرکت مهندسی انسجام ایران و با سرعت ۱۰ تا ۳۲ متر در دقیقه به مدت ۱۰ تا ۶۰ دقیقه در هر جلسه و ۵ جلسه در هر هفته انجام می‌شد؛ در ابتدا برای گرم‌کردن به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه راه می‌رفتند، سپس هر ۱ دقیقه ۲ متر در دقیقه به سرعت دستگاه افزوده می‌شد. این فرایند تا ۷ دقیقه ادامه می‌یافت (از دقیقه ۳ تا دقیقه ۷). سپس برنامه اصلی ورزشی اجرا می‌شد؛ در هفته‌های نخست مدت برنامه ورزشی ۱۰ دقیقه، شدت (سرعت حرکت نوارگردان) آن ۱۲ متر در دقیقه، و درصد شیب نوارگردان ۰/۵ درجه بود. به‌تدریج و به‌صورت فزاینده و پیش‌رونده بر طبق اصول علم تمرین، بر میزان مدت، شدت، و شیب نوارگردان افزوده می‌شد تا در پایان هفته دوازدهم مدت برنامه ورزشی ۶۰ دقیقه، شدت آن ۳۲ متر بر دقیقه، و شیب آن ۱۵ درجه بود (یعنی به‌طور تقریبی در هر هفته ۵ دقیقه به مدت برنامه ورزشی، ۲ متر در دقیقه بر سرعت نوارگردان، و ۱/۲۵ درجه بر شیب نوارگردان افزوده می‌شد؛ جدول ۱). پس از پایان برنامه ورزشی نیز برای سرد کردن، سرعت دستگاه به‌صورت معکوس کاهش می‌یافت تا به سرعت نخست (۱۰ متر در دقیقه) بازگردد. مدت زمان سرد کردن ۷ تا ۱۰ دقیقه طول می‌کشید (۱۶).

جدول ۱. برنامه ورزشی طی دوازده هفته

هفته	جلسات	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم
اول	مدت تمرین (دقـیقه)	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
	درصد شیب (درجه)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
دوم	مدت تمرین (دقیقه)	۱۸	۲۲	۲۲	۲۴	۲۶
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴
	درصد شیب (درجه)	۱۰٪	۱۰٪	۱۰٪	۱۰٪	۱۰٪
سوم	مدت تمرین (دقیقه)	۲۸	۳۰	۳۲	۳۴	۳۶
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۱۶	۱۶	۱۶	۱۸	۱۸
	درصد شیب (درجه)	۱۵٪	۱۵٪	۱۵٪	۱۵٪	۱۵٪

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۱. برنامه ورزشی طی دوازده هفته

هفته	جلسات	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم
چهارم	مدت تمرین (دقیقه)	۳۸	۴۰	۴۲	۴۶	۴۸
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۲۰	۲۰	۲۰	۲۲	۲۲
	درصد شیب (درجه)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
پنجم	مدت تمرین (دقیقه)	۵۰	۵۲	۵۴	۵۶	۶۰
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۲۴	۲۴	۲۶	۲۶	۲۶
	درصد شیب (درجه)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
ششم	مدت تمرین (دقیقه)	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۲۸	۲۸	۲۸	۲۸	۲۸
	درصد شیب (درجه)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
هفتم	مدت تمرین (دقیقه)	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
	درصد شیب (درجه)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
هشتم	مدت تمرین (دقیقه)	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
	درصد شیب (درجه)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
نهم	مدت تمرین (دقیقه)	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
	درصد شیب (درجه)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
دهم	مدت تمرین (دقیقه)	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
	درصد شیب (درجه)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
یازدهم	مدت تمرین (دقیقه)	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
	درصد شیب (درجه)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
دوازدهم	مدت تمرین (دقیقه)	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
	شدت تمرین (متر در دقیقه)	۳۲	۳۲	۳۲	۳۲	۳۲
	درصد شیب (درجه)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵

روش‌های آزمایشگاهی

پس از پایان برنامه تمرینی (پس از ۱۲ هفته) و وزن‌کشی و بی‌هوشی موش‌ها، از قلب آنان به میزان ۵ میلی‌لیتر خون گرفته شد و برای جلوگیری از لخته شدن خون بلافاصله به آن مقداری (در حدود ۱ میلی‌لیتر) محلول EDTA (۱-۲ mg/l^{cc}) افزوده شد؛ و نمونه‌های خونی برای سنجش برخی از پارامترهای هماتولوژیکی این پژوهش (هموگلوبین (Hb)، ظرفیت آهن بدن (TIBC)، فریتین (SF)، سیتوکروم C اکسیداز) به آزمایشگاه منتقل شد. همچنین برای سنجش برخی دیگر از نشانگرهای عضلانی این پژوهش (وزن موش‌ها، وزن عضله نعلی، وزن نسبی عضله نعلی، حجم عضله نعلی، طول عضله نعلی، قطر عضله نعلی، چگالی شبکه مویرگی عضله نعلی، میوگلوبین عضله نعلی، چگالی میتوکندری عضله نعلی، حجم میتوکندری عضله نعلی) بخشی از عضله سولئوس پس از جداسازی و وزن‌کشی، توسط دستگاه هموژنولیز در دمای صفر درجه‌ی سانتی‌گراد، همولیز شد. آنگاه برای جداسازی میتوکندری از محلول به‌دست‌آمده، توسط دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار ساخت

www.SID.ir

Archive of SID

انگلستان[۲]، در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دو نوبت عمل سانتریفیوژ انجام شد. آنگاه با استفاده از روش فولین-لوری[۳] و واکنش نمک کمپلکس فسفومولیبد و تنگستات که معروف فولین سیوکالتو[۴] نیز نامیده می‌شود؛ پروتئین‌های میتوکندری از محلول جدا شده و در نهایت با استفاده از کیت‌های اندازه‌گیری سیتوکروم‌سی‌اکسیداز ساخت کشور امریکا[۵] و دستگاه اسپکتروفتومتر ساخت انگلستان[۶]، میزان فعالیت سیتوکروم اکسیداز بافت برآورد شد. برای اندازه‌گیری غلظت میوگلوبین نیز از کیت‌های آزمایشگاهی ساخت کشور آلمان استفاده شد. همچنین، برای بزرگ‌نمایی و بررسی بافت عضلانی از میکروسکوپ نوری، ساخت شرکت المپیوس[۱۰] ژاپن و با استفاده از روش هماتوکسیلین-ائوزین (H&E)[۱۱] استفاده شد. کلیه عملیات آماده سازی، تهیه برش، رنگ آمیزی و تهیه تصاویر میکروسکوپی در مرکز آزمایشگاهی پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. برای تصاویر میکروسکوپی از میتوکندری بافت عضله نیز از میکروسکوپ الکترونی ساخت کارخانه زاف آلمان استفاده شد. در این پژوهش سه متغیر هایپرتروفی عضلانی، چگالی مویرگی، و چگالی میتوکندری به‌صورت کیفی اندازه‌گیری شد بدین صورت که تصاویر گرفته شده از میکروسکوپ‌های نوری و الکترونی، توسط متخصصان بافت‌شناسی و بر اساس شمارش تعداد آنها و نیز حاصلضرب عدد درجه‌بندی (کالیبره) عدسی مورد نظر میکروسکوپ در تعداد درجات پوشش‌دهنده طول سلول (از نمرات ۱ تا ۴) رتبه‌دهی شدند. بدین‌سان که نمره ۱ معادل تغییر خیلی کم و نمره ۴ معادل تغییر خیلی زیاد است و ادبیات پژوهشی نیز اعتبار چنین شیوه‌ای را تایید می‌کند (۹ و ۱۱).

همچنین در این پژوهش برای سنجش ظرفیت هوازی نیز از آزمون نوارگردان جوندگان استفاده شد، بدین‌سان که موش‌ها روی نوارگردان قرار می‌گرفتند و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه دویدن را آغاز می‌کردند و سپس در هر ۲ دقیقه ۱ متر در دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده می‌شد تا هنگامی‌که حیوانات به واماندگی می‌رسیدند و دیگر قادر به دویدن نبودند. در این هنگام آخرین سرعتی که موش‌ها دویده بودند را یادداشت و در فرمول شفر و تالان[۱۲] (فرمول ۱) قرار داده می‌شد تا اکسیژن مصرفی بیشینه موش‌ها به‌دست آید (۱۹). در این آزمون از شوک‌های خفیف الکتریکی نیز برای تحریک موش‌ها برای دویدن استفاده می‌شد.

فرمول (۱) $VO2max = ۵۴۴۴ + ۲۲۳ \times V$

Vo2max: اکسیژن مصرفی بیشینهٔ موش‌ها (برحسب میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در ساعت)؛ V: آخرین سرعتی که موش‌ها قادر به دویدن روی نوارگردان بودند (برحسب متر در دقیقه).

تحلیل آماری

پس از جمع‌آوری داده‌ها و به‌دست آوردن میانگین و انحراف استاندارد داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی، برای تعیین توزیع نرمال داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد؛ که پس از تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها، برای بررسی فرضیات پژوهشی آزمون پارامتریک تحلیل واریانس یک‌راهه و برای متغیرهای دارای مقیاس کیفی آزمون ناپارمتریک کروسکال-والیس به کار گرفته شد. همه عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و در سطح معناداری $P\leq ۰/۰۵$ مورد آزمون قرار گرفت.

نتایج

یافته‌های آماری از بررسی میزان غلظت فریتین خون موش‌ها نشان داد که تنها گروه تجربی I (T) تفاوت معناداری را نسبت به هر سه گروه دیگر نشان داده است و این میزان بین دیگر گروه‌ها با یکدیگر معنادار نبوده است. با وجود این، وزن بدن موش‌ها در هر دو گروه تجربی I و II تفاوت معناداری را نسبت به هر دو گروه کنترل و تجربی III داشت. این متغیر بین هر دو گروه تجربی I و II نیز اختلاف معناداری را نشان داد درصورتی که میزان این متغیر بین هر دو گروه‌های کنترل و تجربی III معنی‌دار نبود.

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین، میزان وزن عضله نعلی تنها در گروه تجربی II (Ti)، تفاوت معناداری نسبت به دیگر گروه‌ها داشت و این میزان بین دیگر گروه‌ها معنی‌دار نبود. با وجود این، هنگامی‌که وزن نسبی عضله نعلی مورد بررسی قرار گرفت آشکار شد که این متغیر در هر دو گروه تجربی I و II تفاوت معناداری نسبت به یکدیگر و نیز نسبت به هر دو گروه کنترل و تجربی III دارد، در صورتی‌که میزان این متغیر بین گروه‌های کنترل و تجربی III با یکدیگر معنادار نبود.

هنگام مقایسه یافته‌های به‌دست‌آمده از نمرات کیفی میزان هایپرتروفی عضلانی توسط تصاویر میکروسکوپی عضله نعلی [دستجات فیبرهای عضلانی (فاسیکول‌ها[۱۳]) همراه با بافت‌های پیوندی پوشاننده آن (پری‌میوزیم[۱۴]) و فیبرهای عضلانی همراه با اندومیوزیوم[۱۵]] (جدول ۲؛ شکل ۱،۲)، چگالی شبکه‌ی مویرگی (جدول ۲)، و چگالی میتوکندریایی (جدول ۲؛ شکل ۳)، و نیز نمرات کمی غلظت هموگلوبین عضلانی نیز آشکار ساخت که هر دوی گروه‌های تجربی I و II اختلاف معناداری را در میزان این سه متغیر در مقایسه با هر دو گروه‌های کنترل و تجربی III نشان دادند و این در صورتی است که میزان این سه متغیر بین هر دو گروه تجربی I و II با یکدیگر و نیز بین هر دو گروه کنترل و تجربی III با یکدیگر، تفاوت معناداری را نشان نمی‌دهد.

یافته‌های مقادیر سیتوکروم C اکسیداز نیز نشان داد که میزان این متغیر تنها در گروه تجربی II (Ti) تفاوت معناداری را نسبت به هر سه گروه دیگر نشان داد و میزان این متغیر در بین سه گروه دیگر نسبت به یکدیگر تفاوت معناداری را نشان نداد.

یافته‌های آماری از بررسی میزان ظرفیت هوازی موش‌ها نیز نشان داد که ظرفیت هوازی موش‌ها و نیز بیشترین سرعت دویدن موش‌ها روی نوارگردان در گروه تجربی I (T) اختلاف معناداری را نسبت به گروه تجربی II (Ti) و نیز نسبت به هر دو گروه‌های کنترل و تجربی III داشته است، در صورتی‌که گروه‌های کنترل و تجربی III نسبت به یکدیگر تفاوت معناداری را در میزان این متغیر نشان نداده‌اند (جدول ۲).

جدول ۲. نتایج تجزیه‌وتحلیل‌های آماری متغیرهای مورد پژوهش در گروه‌های تجربی تمرین استقامتی (T)، تمرین استقامتی همراه با مکمل آهن (Ti)، مکمل آهن بدون تمرین استقامتی (Si)، و گروه کنترل (S) (میانگین ± انحراف استاندارد)

متغیر/گروه	مقدار	بین گروهی			
		گروه تجربی I (T)	گروه تجربی II (Ti)	گروه کنترل C (S)	گروه تجربی III (Si)
غلظت فریتین خون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)*					
گروه تجربی I (T)	۱۲/۱±۱۰/۷۹	-	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱
گروه تجربی II (Ti)	۱۶/۱±۶/۲۶	p<۰/۰۰۱	-	NS	NS
گروه کنترل C (S)	۱۵/۱±۶/۲۶	p<۰/۰۰۱	NS	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۱۶/۱±۳/۸۲	p<۰/۰۰۱	NS	NS	-
وزن بدن موش‌ها (گرم)*					
گروه تجربی I (T)	۲۹۵/۱۱±۰/۴۴	-	p=۰/۰۱۳	p<۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۱
گروه تجربی II (Ti)	۳۱۵/۱۱±۸/۲۱	p=۰/۰۱۳	-	p=۰/۰۱۹	p=۰/۰۳
گروه کنترل C (S)	۳۳۵/۱۳±۶/۸۷	p<۰/۰۰۱	p=۰/۰۱۹	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۲۳۹/۱۹±۸/۲۳	p=۰/۰۰۱	p=۰/۰۳	NS	-
وزن عضله نعلی (میلی‌گرم)*					
گروه تجربی I (T)	۵±۱۰۴/۱۶	–	p=۰/۰۱	NS	NS
گروه تجربی II (Ti)	۷±۱۲۱/۳۷	p=۰/۰۱	–	p=۰/۰۰۱	p=۰/۰۳
گروه کنترل C (S)	۵±۱۰۹/۶۷	NS	p=۰/۰۰۱	–	NS
گروه تجربی III (Si)	۶±۱۱۳/۷۴	NS	p=۰/۰۳	NS	–

www.SID.ir

ادامه جدول ۲. نتایج تجزیه‌وتحلیل‌های آماری متغیرهای مورد پژوهش در گروه‌های تجربی تمرین استقامتی (T)، تمرین استقامتی همراه با مکمل آهن (Ti)، مکمل آهن بدون تمرین استقامتی (Si)، و گروه کنترل (S) (میانگین ± انحراف استاندارد)

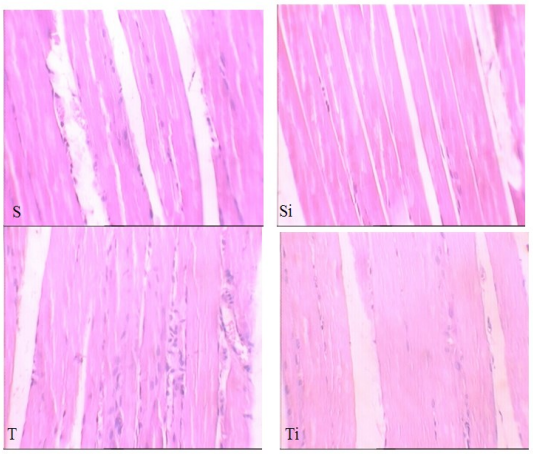
متغیر/گروه	مقدار	بین گروهی			
		گروه تجربی I (T)	گروه تجربی II (Ti)	گروه کنترل C (S)	گروه تجربی III (Si)
وزن نسبی عضله نعلی (میلی‌گرم)*					
گروه تجربی I (T)	۳۵۲/۸±۴۶/۸۱	-	p=۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۴	p=۰/۰۰۴
گروه تجربی II (Ti)	۳۸۲/۱۱±۸۴/۵۶	p=۰/۰۰۱	-	p=۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۱
گروه کنترل C (S)	۳۲۴/۹±۷۴/۴۲	p=۰/۰۰۴	p=۰/۰۰۱	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۳۳۲/۱۶±۷۹/۲۵	p=۰/۰۰۴	p=۰/۰۰۱	NS	-
هایپرتروفی عضلانی (N)**					
گروه تجربی I (T)	۲/۰±۳/۶۷	-	NS	p=۰/۰۲	p=۰/۰۲
گروه تجربی II (Ti)	۲/۰±۶/۶۹	NS	-	p=۰/۰۰۲	p=۰/۰۰۲
گروه کنترل C (S)	۱/۰±۴/۵۱	p=۰/۰۲	p=۰/۰۰۲	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۱/۰±۵/۵۲	p=۰/۰۲	p=۰/۰۰۲	NS	-
دانسیته شبکه‌ی مویرگی (N)**					
گروه تجربی I (T)	۱/۰±۹/۵۶	-	NS	p=۰/۰۳	p=۰/۰۳
گروه تجربی II (Ti)	۲/۰±۱/۷۳	NS	-	p=۰/۰۳	p=۰/۰۳
گروه کنترل C (S)	۱/۰±۶/۶۹	p=۰/۰۳	p=۰/۰۳	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۱/۰±۷/۶۷	p=۰/۰۳	p=۰/۰۳	NS	-
غلظت میوگلوبین عضلانی (نانوگرم در میلی‌لیتر)*					
گروه تجربی I (T)	۱۲۰/۹±۲/۹۹	-	NS	p=۰/۰۱	p=۰/۰۳
گروه تجربی II (Ti)	۱۲۶/۹±۲/۴۷	NS	-	p=۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۱
گروه کنترل C (S)	۱۲±۱۰۵/۰۹	p=۰/۰۱	p=۰/۰۰۱	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۱۰۷/۸±۹/۹۵	p=۰/۰۳	p=۰/۰۰۱	NS	-
چگالی میتوکندریایی (N)††					
گروه تجربی I (T)	۲/۰±۴/۵۱	-	NS	p=۰/۰۰۶	p=۰/۰۰۱
گروه تجربی II (Ti)	۲/۰±۶/۵۱	NS	-	p=۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۲
گروه کنترل C (S)	۱/۰±۵/۷	p=۰/۰۰۶	p=۰/۰۰۱	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۱/۰±۶/۵۱	p=۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۲	NS	-
غلظت سیتوکروم C اکسیداز عضلانی (میکروگرم در میلی‌گرم)*					
گروه تجربی I (T)	۲/۰±۱۱/۳۵	-	p=۰/۰۲	NS	NS
گروه تجربی II (Ti)	۲/۰±۶۸/۴۱	p=۰/۰۲	-	p=۰/۰۲	p=۰/۰۲
گروه کنترل C (S)	۱/۰±۹۲/۱۲	NS	p=۰/۰۲	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۲/۰±۰۵/۳۰	NS	p=۰/۰۲	NS	-
سرعت پایانی دویدن روی تردمیل (متر در دقیقه)*					
گروه تجربی I (T)	۳۳/۲±۳۰/۰۰	-	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱
گروه تجربی II (Ti)	۴۲/۰±۰۰/۶۷	p<۰/۰۰۱	-	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱
گروه کنترل C (S)	۲۰/۱±۳۰/۰۶	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۱۹/۰±۸۰/۹۲	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	NS	-
اکسیژن مصرفی بیشینه (میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در ساعت)*					
گروه تجربی I (T)	۱۲۸۶۹/۴۴۶±۹۰/۶۲	-	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱
گروه تجربی II (Ti)	۱۴۸۱۰/۱۴۸±۰۰/۶۷	p<۰/۰۰۱	-	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱
گروه کنترل C (S)	۹۹۷۰/۲۳۶±۹۰/۲۳	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	-	NS
گروه تجربی III (Si)	۹۸۵۹/۲۰۴±۴۰/۹۲	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	NS	-

*: داده‌ها با مقیاس کمی و تحلیل داده‌ها با آزمون پارامتریک تحلیل واریانس یک‌سویه (آنوا)؛

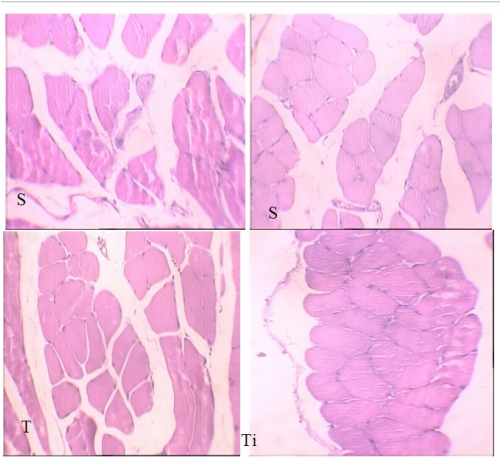
**: داده‌ها با مقیاس کیفی و تحلیل داده‌ها با آزمون ناپارمتریک کروسکال-والیس؛ N: مقیاس داده‌ها کیفی (رتبه‌ای)؛ NS: تفاوت غیرمعنادار (p>۰/۰۵).

www.SID.ir

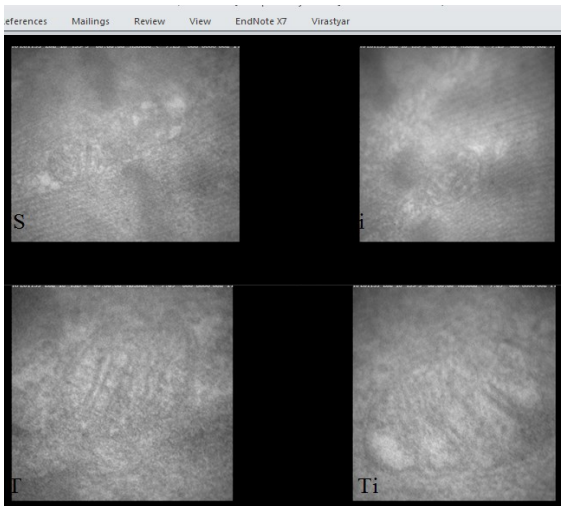
Archive of SID



شکل ۱. مقایسه تصاویر میکروسکوپ نوری (LMT) با بزرگ‌نمایی ۴× از مقطع طول عضله نعلی بین گروه‌ها (T، Ti، S، Si).



شکل ۲. مقایسه تصاویر میکروسکوپ نوری (LMT) با بزرگ‌نمایی ۴× از مقطع عرضی عضله نعلی بین گروه‌ها T، Ti، S و Si



شکل ۳. مقایسه تصاویر میکروسکوپ الکترونی (EMT) با بزرگ‌نمایی ۳۶۰۰۰× از میتوکندری بافت عضله نعلی بین گروه‌های T، Ti، S و Si

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از وزن بدن، وزن نسبی عضله و هایپرتروفی عضله سولئوس آزمودنی‌ها نشان داد، وزن موش‌هایی که تحت برنامه‌ی تمرینی منتخب قرار گرفته بودند (گروه‌های تجربی I و II) نسبت به گروه‌های کنترل و تجربی III (بدون تمرین) به‌طور قابل‌توجهی کمتر بود. اما نتایج آماری افزایش معناداری در وزن نسبی عضله و همچنین هایپرتروفی بافت عضلانی مورد بررسی (عضله سولئوس) در گروه‌های تجربی I و II در مقایسه با گروه‌های کنترل و تجربی III نشان داد. به عبارتی می‌توان چنین استنباط کرد که مقدار افزایش وزن توده بدون چربی در موش‌های تمرین کرده نسبت به موش‌های بدون تمرین و ساکن، ناشی از اثر تمرین استقامتی روی هایپرتروفی بافت عضلانی و کاهش توده چربی آزمودنی‌ها باشد. در این رابطه تحقیقات لی و همکاران، واربارتون و دیگران و راکل و همکاران مبنی بر اثر تمرینات ورزشی بر افزایش توده

www.SID.ir

Archive of SID

عضلانی، با نتایج ما مطابقت داشت (۲۰ تا ۲۲). اگرچه توده عضلانی در گروه تجربی II نسبت به گروه تجربی I افزایش چندانی نداشت، اما این افزایش کم احتمالاً ناشی از دریافت مکمل آهن در این گروه بود که در این زمینه تحقیقات برخی از پژوهشگران با نتایج این بررسی همخوانی داشت (۲۳ و ۲۴).

مشاهدات میکروسکوپی نشان داد، دانسیته مویرگی در بافت عضله مورد آزمایش در گروه تجربی I (T) و II (Ti) نسبت به گروه‌های کنترل و تجربی III (S و Si) افزایش قابل‌توجهی داشت. هرچند دانسیته مویرگی عضله نعلی گروه تجربی I نسبت به گروه تجربی II کمتر بود، اما این مقدار ازنظر آماری معنادار نبودند. این پدیده شاید به علت کاهش فریتین در این گروه باشد. زیرا کاهش فریتین باعث مهار توسعه مویرگی در بافت‌ها می‌شود. این نتایج نشان داد، رشد و توسعه عروقی و پیدایش مویرگ‌های جدید در پاسخ به تمرینات ورزشی، می‌تواند ناشی از افزایش عامل رشد سلول اندوتلیال (ECGF)، عامل رشد فیبروپلاست (FGF) و آنژیوژنین باشد. هریک از این عوامل از بافت‌هایی که در حین فعالیت به اکسیژن نیاز دارند، حاصل می‌شود. در این راستا تحقیقات گاوین و دیگران، مک آلستر و همکاران، و جانیچی و دیگران، مبنی بر اثر تمرینات ورزشی بر توسعه مویرگی با یافته‌های این تحقیق مطابقت داشت (۲۵ تا ۲۷).

در بررسی، تغییرات میوگلوبین بافت عضلانی در پاسخ به تمرینات استقامتی و دریافت مکمل آهن نشان داده شد، غلظت میوگلوبین عضله نعلی در گروه‌های تجربی II و I نسبت به گروه‌های کنترل و تجربی III افزایش قابل‌توجهی را دربرداشتند. این نتیجه می‌تواند پاسخ به نیاز به اکسیژن در شرایط فعالیت بدنی در جهت فرایند فسفوریلاسیون اکسایشی و تولید انرژی باشد. در این رابطه تحقیقات میرو روباخ با نتایج این پژوهش همخوانی داشت (۲۸ و ۲۹).

در بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی بافت عضلانی آزمودنی‌ها، نشان داده شد. چگالی میتوکندری در گروه‌های تجربی I و II نسبت به گروه‌های کنترل و تجربی III، افزایش قابل‌توجه داشت. چاقی و عدم تحرک، چگالی میتوکندری و ظرفیت اکسیداسیون را در عضلات کاهش می‌دهد و تمرین استقامتی همراه با کاهش وزن منجر به افزایش کریستال‌های میتوکندری و چگالی میتوکندری می‌شود. بنابراین احتمالاً تغییرات ایجادشده در چگالی میتوکندری آزمودنی‌های ما، شاید اثر تمرین و بی‌تمرینی در موش‌های تمرین کرده و تمرین نکرده باشد. اما در مقایسه چگالی میتوکندری بین گروه تجربی I و گروه تجربی II، چگالی میتوکندری در گروه تجربی II افزایش بیشتری داشت. ازآنجاکه بررسی‌ها نشان داده است فقر آهن و کم‌خونی میزان سطوح عوامل اکساینده‌ها (اکسیدان) را افزایش داده و باعث آسیب رسیدن به DNA میتوکندری می‌شود. احتمال دارد کاهش چگالی میتوکندری در گروه تجربی I نسبت به گروه تجربی II، فقر آهن بدون آنمی در این گروه باشد. این یافته‌ها با پژوهش‌های هاپلر و همکاران، و فردریکو مطابقت داشت (۳۰ و ۳۱).

در بررسی فعالیت آنزیم سیتوکروم C اکسیداز، این آنزیم در گروه تجربی II (Ti) نسبت به گروه‌های دیگر (T، S، Si) افزایش معناداری داشت. از آنجاکه فعالیت‌های استقامتی منجر به افزایش چگالی میتوکندری فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو در بافت عضلانی می‌شود، بنابراین می‌توان حدس زد موش‌هایی که تحت شرایط تمرین قرار داشته‌اند، فعالیت آنزیمی آنها نیز افزایش داشته است. از طرفی بسیاری از آنزیم‌ها در یک بخشی از ساختمان خود دارای یون‌های فلزی (آهن در سیتوکروم‌ها) هستند. حذف یون‌های فلزی با تغییرات ساختمانی و غیرفعال شدن آنزیم همراه است. بر این اساس کاهش فعالیت سیتوکروم C اکسیداز در گروه تجربی I احتمالاً می‌تواند ناشی از فقر آهن در این گروه باشد (۱۴).

آهن جدا از عملکرد مهمی که به‌عنوان یکی از

www.SID.ir

Archive of SID

اجزای سازنده هموگلوبین دارد، یک عامل اصلی در بسیاری از آنزیم‌ها همانند کمپلکس III زنجیره انتقال الکترونی در میتوکندری است که دستخوش تغییراتی برای سازگاری طی برنامه‌های ورزشی در حیوانات آزمایشگاهی شده است (۹ و ۳۲). بنابراین، گفته می‌شود که کمبود آهن توسط سازوکارهای دیگری که در تولید هموگلوبین و تحویل اکسیژن به بافت‌ها اختلال ایجاد می‌کند، می‌تواند روی عملکرد ورزشی تأثیرگذار باشد. برخی از پژوهشگران شواهد و مدارکی را منتشر کردند که نشان می‌داد کمبود آهن می‌تواند روی عملکرد افراد اثرگذار باشد. آنها نشان دادند با وجودی که آنمی موش‌های دچار فقر آهن با انتقال خون جبران شده بود اما کمبود آهن توانست به‌طور قابل‌توجهی در زمان دویدن رَت‌ها روی تردمیل اختلال ایجاد کند (۳). با این حال، این آزمایشات کوتاه‌مدت نشان‌دهنده یک سری از مداخلات غیرفیزیولوژیکی بود که نمی‌تواند نتایج مشابهی را در انسان ایجاد کند. در یک بررسی مشابه، از طریق فلبوتومی‌های مکرر پس از ۹ هفته در حیوانات آزمایشگاهی فقر آهن ایجاد شد که پس از اصلاح آنمی توسط تزریق خون، میانگین زمان استقامت دویدن در گروهی که دچار کمبود آهن بودند ۵۱/۹ دقیقه و در گروه کنترل ۴۹/۱ دقیقه بود و نتایج حاکی از آن بود که کمبود آهن در بافت‌ها، هیچ تأثیری را دست‌کم در کوتاه‌مدت روی عملکرد بدنی ندارد (۳ و ۳۲). درمقابل، کمبود آهن در درازمدت حتی در افراد بدون آنمی می‌تواند منجر به کاهش عملکرد جسمانی شود. بررسی‌های انجام‌شده در کشورهای درحال‌توسعه نشان می‌دهد که فقر آهن طولانی‌مدت با زمان دویدن روی تردمیل در ارتباط است. اگرچه مکمل‌های آهن عملکرد بدنی را بیشتر در جوامعی که دارای فقر آهن درازمدت بوده‌اند، بهبود می‌بخشد (۱۵ تا ۱۷).

یکی از نقاط قوت این پژوهش را می‌توان ارزیابی اکسیژن مصرفی بیشینه آزمودنی‌ها عنوان کرد که با توجه به اینکه هر دو گروه‌های تجربی I و II تفاوت معناداری را نسبت به گروه کنترل و تجربی III نشان داده‌اند. می‌توان این‌طور بیان کرد که این نوع برنامه‌های ورزشی مؤثر و کارآمد بوده‌اند و سبب بهبود ظرفیت هوازی موش‌های تمرین کرده شده‌اند. و چون ظرفیت هوازی و اکسیژن مصرفی بیشینهٔ موش‌هایی که در حین انجام برنامه‌های ورزشی مکمل آهن دریافت می‌کردند نسبت به موش‌هایی که مکمل آهن دریافت نمی‌کردند، به‌طور معناداری بیشتر بهبود یافته بود می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که دریافت مکمل‌های آهن در حین انجام برنامه‌های ورزشی احتمالا می‌توانند اثرات مثبتی بر ظرفیت هوازی و اکسیژن مصرفی بیشینه داشته باشد. البته پژوهش پیش‌رو نیز مانند هر پژوهش دیگری با یک‌سری محدودیت‌ها روبه‌رو بود و شاید یکی از محدودیت‌های این پژوهش، عدم استفاده از دارونما و شبه‌دارو در حیواناتی بود که مکمل استفاده نمی‌کردند و بدین‌سان ممکن است که گاواژ کردن حیواناتی که مکمل دریافت می‌کردند، به‌عنوان یک متغیر مزاحم، منجر به اثراتی در این حیوانات شده باشد و بر نتایج و یافته‌های این پژوهش تأثیر گذاشته باشد. بنابراین، پژوهش‌های آینده باید چنین محدودیت‌هایی را در نظر بگیرند و در بررسی‌هایشان به آن توجه کنند. بنابراین، در پایان با توجه به مطالب و نکاتی که عنوان شد و نیز با توجه به یافته‌های این پژوهش، می‌توان این‌طور نتیجه‌گرفت که ظاهرا تمرینات استقامتی شدید ممکن است باعث تعادل منفی آهن در آزمودنی‌های تحت برنامه‌های ورزشی شود. اما وقتی آزمودنی‌ها حین تمرین، مکمل آهن دریافت می‌کنند احتمالاً در ظرفیت شاخص‌های تنفس سلولی و متغیرهای ساختار عضلانی و ظرفیت هوازی آنها بهبود ایجاد می‌شود. درحالی‌که مکمل آهن در شرایط بی‌تمرینی، ممکن است تأثیری روی متغیرهای تنفس سلولی و ساختارهای عضله نعلی و ظرفیت هوازی آزمودنی‌ها نداشته باشد. با این حال، برای تایید این یافته‌ها بررسی‌های بیشتری نیاز است.

www.SID.ir

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری (تأثیر تمرین استقامتی و مکمل آهن روی برخی از شاخص های آنمی و ساختار عضلات اندام تحتانی موش های نر صحرایی؛ نوشته محمدعلی سمواتی شریف) در دانشگاه تهران است. بنابراین بدین‌وسیله از تلاش‌ها و زحمات اساتید محترم رهنما و همه مسئولان محترم دانشگاه تهران و دانشگاه علوم پزشکی تهران، قدردانی و سپاسگزاری می‌نماید.

پی‌نوشت‌ها

[1] Wistar 14848
[2] MFD by A&D CO, LTD, Japan
[3] Gavage
[4] Heraeus Manufactory, England
[5] Folin lowry melhod
[6] Folin Cio Calteu
[7] Sigma Cytochrome C Oxidase Assay Kit, Saint Louis, Missouri 63103 USA
[8] Spectrophotometric, CECLL Instruments Manufactory, Serial 121
[9] Human MB/Sigma-Aldrich Myoglobin Immunoassay
[10] ELISA Kit, Rohe Manufactory
[11] Eosin Atock
[12] Zaff Manufactory, Model: A902 LEM
[13] Shapiro-Wilk
[14] One-Way Anova
[15] Kruskal-Wallis Test
[16] Phlebotomy

منابع

1. Mahan LK, Raymond JL, Escott–stump S. Krause's Food, Nutrition & Diet therapy. 14th, Edition, Copyright Elsevier (USA). All rights reserved. 2016; 2:135-143.

2. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamentals of clinical chemistry. 7th, Edition. W. B. Saunders Company. 2014; 596-665.

3. Blayney L, Bailey–wood R, Jacobs A, Henderson A, Muir J. The effects of iron deficiency on the respiratory function and cytochrome content of rat heart mitochondria. Clin Sci. 2005, 39(5): 744-8.

4. Dubnov G, Constantini NW. Prevalence of iron depletion and anemia in top level basketball players. Int j sport Nutr Exerc metab. 2004; 14 (1): 30-7.

5. Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL. Modern Nutrition in Health and Disease (Modern Nutrition in Health & Disease (Shils)). 12th, Edition. Copy Right Lippincott Williams & Wilkins. 2012; 248-270.

6. Friedmann B, weller E, Mairbaurl H, & Bartsch P. Effects of iron repletion on blood volume and performance capacity in young athletes. Med Sci Sports Exer. 2001; 133(5): 741-746.

7. Spodaryk K. Iron metabolism in boys involved in intensive physical training. Physiol Behav. 2002; 75(1-2): 201-206.

8. Siavoshy H, Heidarianpour A. Effects of Three Type Exercise Training Programs on FBS and HbA1C of Elderly Men with Type 2 Diabetes. Iranian Journal of Diabetes and Obesity. 2017; 9(1,2): 14-19. [In Persian]

9. Iversen N, Krustrup P, Rasmussen HN, Rasmussen UF, Saltin B, Pilegaard H. Mitochondrial biogenesis and angiogenesis in skeletal muscle of the elderly. Exp Gerontol. 2011; 46(8): 670-8.

10. Dong F, Zhang X, Culver B, Chew HG, Kelley RO, Ren J. Dietary iron deficiency induces ventricular dilation, mitochondrial ultrastructral aberrations and cytochrome C release: involvement of nitric oxide synthase

www.SID.ir

Archive of SID

and protein Tyrosine nitration. Clin Sci (lond). 2005; 109(3): 277-86.

11. Ljubicic V, Hood DA. Specific attenuation of protein kinase phosphorylation in muscle with a high mitochondrial content. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2009; 297(3): E749-58.

12. Menshikova EV, Ritov VB, Ferrell RE, Azuma K, Goodpaster BH, & Kelley DE. Characteristics of skeletal muscle mitochondrial biogenesis induced by moderate-intensity exercise and weight loss in obesity. J Apple physiol. 2007; 103(1): 21-27.

13. Walter PB, Knutson MD, Paler-Martinez A, Lee S, Xu Y, Viteri FE, & Ames BN. Iron deficiency and iron excess damage mitochondrial and mitochondrial DNA in rats. Proc Natl Acad Sci USA. 2002; 99(4): 2264-2269.

14. Shetabboushehri SV, SamavatiSharif MA, Ravasi AA, Kordi MR, Javadi E, Minaii B. Effect of oral iron supplementation and endurance training on cytochrome C oxidase activity in rat soleus muscle. Int J Pharm Pharm Sci. 2010; 2(2): 33-35.

15. Samavati Sharif M, Rajabi A, Siavoshi H. The Effects of 6-Weeks Aerobic Exercise Training on Blood Hematological Factors in Adolescence Girls. The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility. 2016; 19(37): 8-15. [In Persian]

16. Samavatsharif M, Ravasi A, Minaei B, Javadi E, Kordi M. The Effect of Endurance Training and Iron Supplement on Anemic Indexes and Cytochrome C Oxidase in Lower Limb Muscles of Rats. Journal of Sport Biosciences. 2010; 2(7): 19-40. [In Persian]

17. Afshari A, Samavati Sharif MA, Siavoshy H. Comparison of Speed and Strength Training to Maintain Hematological Factors and Vo2max of Male Athletes 13 to 15 Years. Jsport.pec. 2016; 12(23): 53-64. [In Persian]

18. Whihe WH. The laboratory rat. In T. Pool (Ed); UFAW Handbook on The care and management of laboratory animals; 6th Ed Longman Scientific and technical, Harlow, UK; 1987.

19. Schefer V, Talan MI. Oxygen consumption in adult and AGED C57BL/6J mice during acute treadmill exercise of different intensity. Exp Gerontol. 1996; 31(3):387-92.

20. Lee WJ, Kim M, Park HS, Kim HS, Jeon MJ, Oh KS, & et al. AMPK activation increases fatty acid oxidation in skeletal muscle by activating PPAR-alpha and PGC1. Biochem Biophys Res Commun. 2006; 340(1): 291- 295.

21. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. CMAJ. 2006; 174(6): 801-809.

22. Röckl KS, Hirshman MF, Brandauer J, Fujii N, Witters LA, Goodyear LJ. Skeletal Muscle Adaptation to Exercise Training AMP Activated protein kinase mediates, muscle fiber type shift. Diabetes. 2007; 56(8): 2062- 2069.

23. Banaei P, Tadibi V, Rahimi MA. Comparison of the effect of 8 weeks of combined exercise with and without resting interval on fat profile and body composition in women with type 2 diabetes. Physiology of Exercise and Physical Activity. 2014; 7(1): 1045-1050. [In Persian]

24. Heidarianpoor A, Samavati sharif MA, Keshvary M, Ahmadvand A, siavoshy H. Effect of three exercise training on plasma CRP levels and WBC in patients with type II diabetes. Physiology of Exercise and Physical Activity. 2016; 9(2): 1375-1384. [In Persian]

www.SID.ir

25. Gavin TD, Robinson CB, yeager RC, England JA, Nifong LW, & Hickner RC. Angiogenic growth factor response to acute systemic exercise in human skeletal muscle. J Appl physiol. 2004; 96: 19- 24.

26. McAllister RM, Jasperse JL, Laughlin MH. Nonuniform effects of endurance exercise training on vasodilatation in rat skeletal muscle. J Appl physiol. 2005; 98(2):753-761.

27. Suzuki J. Microvascular angio adaptation after endurance training With L-arginine Supplementation in rat heart and hind leg muscles. Expe physio. 2005; 90(5): 763-771.

28. Meyer RA. Aerobic performance and the function of myoglobin in human skeletal muscle. Am J physiol Regul Integr Comp Physiol. 2004; 287(6): R1304 - R1305.

29. Robach P, Cairo G, Gelfi C, Bernuzzi F, Pilegaard H, Viganò A, & et al. Strong iron demand during hypoxia-induced erythropoiesis is associated with down-regulation of iron related proteins and myoglobin in human skeletal muscle. Blood. 2007; 109(11): 4724-4731.

30. Hoppeler H, & Fluck M. Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and function. Med Sci Sports Exerc. 2003; 35(1): 95-104.

31. Toledo FG, Menshikova EV, Ritov VB, Azuma K, Radikova Z, DeLany J, & et al. Effects of physical Activity and weigh loss on skeletal muscle mitochondria and Relationship with Glucose control in type 2 Diabetes. Diabetes. 2007; 56(8): 2142-2147.

32. Zoller H, Vogel W. Iron supplementation in athletes, first do no harm. Nutrition. 2004; 20(7-8): 615–619.

www.SID.ir

Shahid Beheshti University

Sport and Exercise Physiology

Spring & Summer 2018/ No.1/ Vol. 11/ Pages: 13-28

The effect of endurance training and iron supplementation on some cellular respiration factors in rats

Mohammad Ali Samavati Sharif[1*] , Aliasghar Ravasi[2], Mohammad Reza Kordi[2], Bagher minaii[3], Hojjatollah Siavoshy[4]

[1] Faculty of Sport Sciences, University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran
[2] Faculty of Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
[3] Medical histologist traditional medicine tehran university medical science,Tehran, Iran
[4] Department of Exercise Physiology, Sports Medicine Research Center, Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran

Received: 2/8/2015 Revised: 22/5/2017 Accepted: 3/9/2017

Purpose: Iron plays an important role in oxygen transfer, mitochondrial respiratory chain enzymes, and oxidative phosphorylation; therefore, the reduction of iron can have a negative effect on the oxidative performance of athletes. The aim of study was investigate the effect of endurance exercise programs and iron supplementation on some cellular respiration factors in rats.

Methods: Forty male wistar-rats were divided into four groups. experimental Group I, do endurance exercise programs on treadmill in during 12 weeks (intensity 32 m.min-1, 60 minutes in every session, and 5 sessions in a week) (T). Experimental group II do same exercise program, but intake daily 800 micrograms iron supplementary (Ferrous-Sulphate) (Ti). The control group C was without exercise (sedentary) (S), and experimental group III, did not do any exercise, but received an 800 microgram daily iron supplement (Si). After 12 weeks, their blood and muscle tissue samples were analyses. Data were analyzed using one way-ANOVA and Kruskal-Wallis Test ($P<0.05$).

Results: Blood ferritin concentration only in the experimental group I and absolute weight of soleus muscle and cytochrome C oxidase only in the experimental group II than other groups was statistically significant ($p<0.05$). Also, muscle hypertrophy, capillary density, and mitochondrial density in the experimental groups I and II compared with the control group and experimental group III were significantly different ($p<0.05$); But, this differences between both experimental groups I and II were not significant. Despite, body mass, relative weight of soleus muscle, and maximum oxygen consumption in the Experimental groups compared with the control group were significantly different and these differences between the experimental groups also were significant ($p<0.05$).

Conclusions: It seems that iron supplementations combined with exercises maybe improve some markers of cellular respiration, hypertrophy, and aerobic capacity; Despite, these improvements probably do not occur in detraining.

Keywords: Soleus Muscle, Cytochrome oxidase, Ferritin, Aerobic capacity, Myoglobin, Mitochondria.

[*] Corresponding Author: Mohammad Ali Samavati Sharif. Tel: 09188124456. E-Mail: m-samavati@basu.ac.ir

www.SID.ir