Investigating the histomorphometric responses of SOL and EDL muscles of rats in response to exercise, detraining and rehabilitation

[1]Shibani Shahin,* [2] Daryanosh Farhad, [3] Rafahit Mohammad Ali, [3] Seyouf Jahormi Maryam.
1 PhD in Sports Physiology, Department of Sports Physiology, Shiraz University, Shiraz. Iran.
2 Associate Professor of Sports Physiology, Department of Sports Physiology, Shiraz University, Shiraz, Iran.
3 Department of Physical Education and Sports Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.
3 Department of Physical Education and Sports Sciences, Firozabad Branch, Meimand Center, Islamic Azad University, Meimand, Iran.

Abstract

Types of muscle fibers and their size are factors that determine muscle performance, which can change with various factors such as sports activity. The purpose of this study is to evaluate and compare histomorphometric parameters (composition of fibers and size of muscle fibers) in soleus (SOL) and extensor longus digitorum (EDL) muscles of male Sprague Dawley rats.In this research,30 male Sprague-Dawley rats with an average weight of 300.52 ± 26.10 grams were used in this research. The rats were divided into five groups of 6: Control group, exercise, exercise-inactivity for 7 and 14 days, exercise-inactivity-rehabilitation for 14 days. The SOL and EDL muscles were separated from the lower limb, frozen in liquid nitrogen and kept at minus 80. Histochemistry and morphometric methods (H&E and mATPase)were used. Three types of main filaments (I, IIA, IIB) and intermediate filaments were identified by myofibrillar ATPase histochemistry method. Data analysis was done using one-way analysis of variance. $P<0.05$ significance was considered for all data.The result showed that Training caused a significant increase in the weight of SOL and EDL muscles. In the non-use period, the muscles decreased and in all stages this decrease was greater in SOL muscle than EDL. Better recovery was observed in the EDL muscle. In the EDL muscle, after the exercise-inactivity period, compared to the control group, type IIB fibers increased and type IIA fibers decreased ($P < 0.001$). In the exercise-inactivity-rehabilitation group, type IIB fibers decreased and IIA fibers increased ($P<0.002$). Variation in cell size and destruction was greater in the soleus muscle than in the EDL muscle. According to the results, it can be said that HIIT training is a powerful inducer of skeletal muscle and produces these specific changes through changes in muscle fiber composition. fiber type conversion indicates variability of mATPase and MHC isoforms. Non-use of muscles had different effects on the morphological adaptations obtained from HIIT exercises in SOL and EDL muscles. Therefore, the present study states that (regardless of the method used) non-use has harmful effects on rat skeletal muscles.

Key words: HIIT training, disuse, histomorphometric parametrs.

بررسی پاسخ های هیستومورفومتریک عضلات SOL و EDL رت ها در پاسخ به تمرین ورزشی، بی تحرکی و بازتوانی

[۱]شیبانی شهین،* [۲]دریانوش فرهاد، [۳]رفاهیت محمد علی، [۳]سیوف جهرمی مریم

[۱] دکتری فیزیولوژی ورزشی،گروه فیزیواوژی ورزشی دانشگاه شیراز، شیراز. ایران.

[۲] دانشیار فیزیولوژی ورزشی،گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

[۳] گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران .

[۳] گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد فیروزاباد، مرکز میمند، دانشگاه ازاد اسلامی، میمند، ایران.

چکیده

انواع تار عضلانی و اندازه آنها از عوامل تعیین کننده عملکرد عضلانی هستند که می توانند با عوامل مختلفی از قبیل فعالیت ورزشی تغیر کند.هدف از این بررسی ارزیابی و مقایسه پارامترهای هیستو مورفومتریک(ترکیب تار و اندازه تارهای عضلانی) در عضلات نعلی(SOL)و بازکننده بلند انگشتی(EDL)رت های نر نژاد اسپراگ داولی است. در این پژوهش ۳۰ رت نر نژاد اسپراگ داولی با میانگین وزنی ۲۶/۱۰ ± ۳۰۰/۵۲ گرم در این پژوهش استفاده شدند. رت ها به پنج گروه ۶ تایی تقسیم شدند:گروه کنترل، تمرین، تمرین- بی تحرکی ۷ و۱۴ روزه، تمرین- بی تحرکی- بازتوانی ۱۴ روزه. عضلات SOL و EDL ازاندام تحتانی جداشده، در نیتروژن مایع منجمد و در منفی ۸۰ نگهداری شدند.روش هیستوشیمی و مورفومتری(H&E و mATPase) استفاده شد. سه نوع تار اصلی (I, IIA, IIB) و تارهای واسطه ای از روش هیستوشیمی ATPase میوفیبریلی شناسایی شد. تحلیل داده ها با استفاده از تحلیل واریانس یکطرفه صورت گرفت. معناداری P < ۰/۰۵ برای تمامی داده ها در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که تمرین سبب افزایش معناداری در وزن عضلات SOL و EDL شد. در دوره عدم استفاده ورن عضلات کاهش یافت و در تمام مراحل این کاهش در عضله SOL بیشتراز EDL بود. بازتوانی بهتر در عضله EDL مشاهده شد. در عضله EDL بعد از دوره تمرین- بی تحرکی در مقایسه با گروه کنترل تارهای نوع IIB افزایش و تارهای نوع IIA کاهش یافتند(P < ۰/۰۰۱). در گروه تمرین- بی تحرکی- بازتوانی، تارهای نوع IIB کاهش و IIA افزایش داشتند (P < ۰/۰۰۲). تنوع در اندازه و تخریب سلولی در عضله سولئوس بیشتر از عضله EDL بود. با توجه به نتایج حاصل میتوان گفت تمرین HIIT القاء کننده قدرتمندی در عضلات اسکلتی می باشد و این تغییرات ویژه را از طریق تغییر در ترکیب تار عضلانی تولید می کند. تبدیل نوع تار نشان دهنده تغییر پذیری mATPase و ایزوفرم های MHC می باشد. عدم استفاده از عضلات اثرات متفاوتی بر سازگاری های مورفولوژیکی حاصل شده از تمرینات HIIT در عضلات SOL و EDL داشت.ب نابراین مطالعه حاضر عنوان می کند که(صرف نظر از روش مورد استفاده) عدم استفاده اثرات مضری بر عضلات اسکلتی رت دارد.

واژگان کلیدی: تمرینات HIIT، عدم استفاده، فاکتورهای هیستوموفومتریک.

مقدمه

عضله اسکلتی بافت هتروژنیک متشکل از انواع فیبر تند و کند میباشد. یکی از ویژگی‌های عضلات اسکلتی، ساختار سازمان یافته فیبرهای آن است که انواع قابلیت‌های عملکردی را برای این بافت به ارمغان می‌آورد. همچنین فیبرهای عضلانی قادر به تنظیم خواص فنوتیپی خود در پاسخ به نیازهای عملکردی متفاوت هستند. به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی از طریق مکانیزم‌هایی می‌تواند موجب تغییر در ایزوفرم‌های MHC و به دنبال آن تغییر در ساختار و فنوتیپ تار عضلانی گردد(گیوس و همکاران ۲۰۱۶). یکی از تغییرات احتمالی فنوتیپی تغییر در تارهای عضلانی است. عضلات دارای ۳ نوع تار عضلانی اصلی (نوع I , IIA و IIB) هستند، و در عضلاتی مانند نعلی (SOL) در رت تقریباً به طور کامل از تارهای نوع I و عضله بازکننده طویل انگشتان پا (EDL) از تارهای نوع IIA و IIB تشکیل شده است و بوسیله ATP ase میوفیبریلی تعیین می شوند. مطالعات نشان داده اند که در اثر وجود محرک موثر، وزن عضله، وزن تارهای عضلانی و سطح مقطع عضلات و دیگر عوامل مورفولوژیکی مانند (هسته های سلولی، میوسیت ها، بافت همبند و ...) دستخوش تغییر میشوند (دسافی و همکاران ۲۰۰۵). ایجاد این تغییرات در عضلات برای رشد طبیعی و بیان مطلوب پروتئین های عضلانی نیازمند فعالیت های تحمل وزن است (تیدال و همکاران ۲۰۰۵). فعالیت بدنی نیز فنوتیپ پیچیدهای دارد که متاثر از میلیونها عامل محیطی و ژنتیکی است (کولمن و همکاران ۲۰۰۶)،(دسانکا و همکاران ۲۰۰۵). زمانی که الگوی ویژه ای از فعالیت عضلانی به صورت مکرر اجرا شود، تغییرات مورفولوژیکی مهمی در عضلات رخ می دهد، که سبب تولید پاسخ های عملکردی زیادی می شوند (ایلکوواسکی و همکاران ۲۰۰۵) در پژوهشی که توسط فرای و همکاران (۲۰۱۴) انجام شد پاسخ فنوتیپی فیبر عضلانی به تمرین هوازی در بزرگسالان کم تحرک مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل ایمونوهیستوشیمی نشان داد که محتوای سلولهای ماهوارهای پس از تمرین، به ویژه در الیاف نوع Iافزایش یافت اما تغییری در تعداد سلولهای مرتبط با الیاف نوع II مشاهده نشد (فرای و همکاران ۲۰۱۴). همچنین در پژوهشی دیگر با بررسی تمرینات HIIT مشخص شد که این تمرینات سبب افزایش حجم عضلانی شده اند اما بر تغییرات تارها تاثیری نداشته اند (پیته و همکاران ۲۰۰۰). ماتیو و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهشی اثر تمرینات هوازی و HIIT بر بهبود اندازه و عملکرد کل عضله و میوفیبر را بررسی کردند. نتایج پژوهش آنها نشان داد تمرینات هوازی و HIIT از طریق بازسازی خواص انقباضی در سطح میوفیبر، علاوه بر هیپرتروفی شدید عضلانی، عملکرد عضلانی را بهبود بخشیده اند و از این نظر بین آنها تفاوتی وجود نداشت(ماتیو و همکاران ۲۰۰۹). در مقابل ایجاد سازگاریها در اثر محرکات مختلف، بی تحرکی نیز وجود دارد که اغلب سبب اثرات زیان آوری از قبیل آتروفی، فیبروز بین سلولی، از دست دادن قابلیت انبساط و کاهش مقاومت لیگامنت ها و تاندون ها می گردد (کارن و همکاران ۲۰۰۹). یکی از انواع تمرینات ورزشی، تمرینات اینتروال با شدت بالا(HIIT) است که بسیار متنوع هستند و بوسیله شدت، مدت تکرار تمرین و مدت زمان ریکاوری تعیین می شوند (گیبالا و همکاران ۲۰۱۳). اما در مورد این نوع تمرینات نسبت به دیگر فعالیت ها مانند تمرینات فقط سرعتی یا استقامتی ، اطلاعات کمی از تمامی جنبه های آن در اختیار است (دی آرجو و همکاران ۲۰۱۶). به دلیل شدت بالای HIIT، ممکن است تمرینات HIIT به جای بهبود، سبب پاسخ های عملکردی نامناسب، استرس فیزیولوژیکی و علایم بیش تمرینی بر خلاف آنچه از تمرینات ورزشی متصور هستیم، شوند (سیلویا و همکاران ۲۰۱۲) بنابراین اکثر تمرینات HIIT در دوره های کوتاه مدت انجام می شوند (مالیز و همکاران ۲۰۱۱). برخی پژوهش‌ها نیز نشان داده‌اند که با تمرینات HIIT سازگاری‌های مورد نیاز همانند تمرینات تداومی(هوازی) ایجاد می‌شود با این تفاوت که سریعتر به دست می‌آیند و این موضوع در زمان کمبود وقت برای ورزشکاران اهمیت ویژه‌ای دارد. در پژوهشی که توسط فرای و همکاران (۲۰۱۴) انجام شد پاسخ سلولهای ماهوارهای نوع خاص فیبر به تمرین تداومی در بزرگسالان کم تحرک را مورد بررسی قرار دادند. تجزیه و تحلیل ایمونوهیستوشیمی نشان داد که محتوای هسته سلولی و میونوکلئوس ها پس از تمرین، به ویژه در الیاف نوع I افزایش یافت .اما تغییری در تعداد سلولهای مرتبط با الیاف نوع II مشاهده نشد (فرای و همکاران ۲۰۱۴). همچنین در پژوهشی دیگر با بررسی تمرینات HIIT مشخص شد که این تمرینات سبب افزایش حجم عضلانی شده اند اما بر تغییرات تارها تاثیری نداشته اند (پیته و همکاران ۲۰۰۰)

از طرف دیگر بعد از هر دوره تمرین احتمالا قطع تمرین و یا کاهش شدت و مدت تمرین وجود دارد که از آن میتوان به عنوان بی تمرینی یاد کرد. در این دوره زمانی احتمالا سازگاری ها و تغییرات احتمالی ورزشی در پاسخ به نبود محرک از بین میرود، به طوریکه برخی از مطالعات نشان داده‌اند که سازگاری‌های متابولیکی و عملکردی برنامه های ورزشی حتی پس از مدت کوتاهی عدم فعالیت کاهش می‌یابد و بی تمرینی میتواند بر مورفولوژیک عضله تاثیر منفی بگذارد. ورزشکاران اغلب به دلیل بیماری و آسیب، و یا تجربه عوامل دیگر در روند برنامه‌های تمرینی خود وقفه ایجاد می‌کنند که ممکن است باعث کاهش سطح فعالیت بدنی آن‌ها شود و به دنبال آن کاهش حجم و توده عضلانی رخ دهد، بنابراین نیاز است که با انتخاب بهترین شیوه تمرینی بتوانند این حجم و قدرت را حفظ نمایند. با توجه به مطالب بیان شده، به نظر می‌رسد علاوه بر بررسی اثرات تمرین HIIT بر عضلات، بررسی آتروفی در دوران بی‌تمرینی نیز بسیار حائز اهمیت باشد. تمرینات تکراری با شدت بالا به عنوان درمان قدرتمندی در آتروفی های عضلانی استفاده میشوند، با این وجود اثر تمرین منظم، و در پی آن کاهش یا قطع تمرین به طور کامل مشخص نمی باشد. (پترینی و همکاران ۲۰۱۶). اینکه آیا تمرین HIIT می تواند تغییرات مثبت موثری در مورفولوژیک عضله ایجاد کند یا خیر و آیا میتواند مدت زمان بیشتری تغییرات ایجاد شده مورفولوژیکی را حفظ نماید مشخص نیست اما با توجه به اینکه این شیوه تمرین امروزه بسیار مورد توجه ورزشکاران و مربیان قرار گرفته است، و با توجه به ناهمخوانی های متعددی که در مطالعات گذشته در رابطه با تاثیرات این نوع تمرین بر عضلات ذکر شده است، داشتن اطلاعات هر چه بیشتر در مورد آن بسیار حائز اهمیت و ضروری به نظر میرسد (گیگار و همکاران ۲۰۰۵)، (ایشی هارا و همکاران ۲۰۰۴). فرضیه آزمایش شده در مطالعه حاضر این بود که تمرین انجام شده در یک دوره طولانی چه تاثیراتی بر عضله دارد و آیا می تواند اثرات عدم استفاده از عضله را به حداقل برساند یا خیر. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثرات دوره تمرینی بر عضلات اسکلتی و متعاقب آن دوره بی تمرینی و بازتوانی با استفاده از تحلیل های هیستومورفومتریک بر عضله SOL و EDL در موش های نر نژاد اسپراگداولی بود.

روش شناسی

این پژوهش از نوع تجربی بنیادی بوده است. در این پژوهش ۳۰ سر موش نر ۲ ماهه نژاد اسپراگ داولی با میانگین وزنی ۲۶/۱۰ ± ۳۰۰/۵۲ گرم استفاده شده است. رت ها از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری شدند. موش ها در قفس های ویژه از جنس پلی کربنات شفاف ۴۲×۳۰×۱۵ cm و درمحیط ازمایشگاهی۲۲±۲ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ و با دسترس بودن آزاد به آب و غذای پلت نگهداری و کنترل شدند. تمامی جلسات تمرین در هنگام عصر که بهترین زمان تمرین در فعالیتی طبیعی رت ها می باشد و در زیر نور قرمز به علت کمترین استرس زایی انجام شد. بر اساس درصدی از آزمون کار عملی آغاز گردید. با توجه به تاثیر متفاوت سطح شیبدار، کل برنامه تمرینی روی نوارگردان بدون شیب انجام شد.تمام آزمایش های صورت گرفته بر اساس دستورالعمل کمیته کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیرازطراحی گردید(کد اخلاقی: IR.SUMS.ERC.1396.S444)

جهت جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیک نمونه ها به مدت ۲ هفته تحت شرایط جدید نگهداری شدند که هفته دوم شامل اشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان بود (۵ جلسه در یک هفته راه رفتن و دویدن با سرعت ۶ تا ۱۲ m/min و شیب صفر درجه) سپس مطابق با برنامه تمرینی خود شش هفته فعالیت کردند. بعد از تمرین هر گروه به طور تصادفی به ۳ زیرگروه تقسیم شدند.گروه اول ۲۴ ساعت پس از اخرین جلسه تمرینی، گروه دوم ۷ روز و گروه سوم ۱۴ روز پس از اخرین جلسه تمرینی بی تمرین شدند. بعد از دوره بی تمرینی موش ها مجددا به مدت ۲ هفته مورد بازتوانی قرار گرفتند.

در مراحل تشریح، موش ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از زایلازین و کتامین (۸۰-۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) بی هوش و در شرایط اخلاقی عضله SOL و EDL از اندام تحتانی حیوان برداشته شد، در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شدند، در ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم وزن کشی گردید. سپس بلافاصله در ازت مایع منجمد و برای سنجش های بعدی به فریزر با دمای ۸۰ - منتقل گردید.

پروتکل ورزشی : تمرین تناوبی با شدت بالا: ۴ تکرار ۴ دقیقه ای با شدت ۸۵ تا ۱۰۰ درصد با استراحت ۲ دقیقه و ۲ تکرار ۳ دقیقه ای با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد $VO2_{max}$ انجام گرفت. در هفته اول تکرارها دارای سرعت ۱۵ m/min بودند که در هفته ششم به ۴۰ متر در دقیقه رسید. هر دو گروه ۵ دقیقه با سرعت ۸ تا ۱۰ متر و ۵۰ تا ۶۰ درصد $VO2_{max}$ گرم و با همین زمان و شدت سرد می کردند (ماتیلو و همکاران ۲۰۰۶).

بی تمرینی و بازتوانی : رت ها در دوره بی تمرینی در قفس با دسترسی آزاد به آب و غذا به مدت ۷ و ۱۴ روز پس از دوره شش هفته ای تمرین **HIIT** بی تمرین شدند. در طول این دوره هیچگونه برنامه و فعالیت ورزشی صورت نگرفت. گروه بازتوانی پس از بی تحرکی به مدت ۲ هفته برنامه ورزشی را با شدت و مدت ۲ هفته اول از دوره تمرینی شش هفته ای اجرا کردند.

تحلیل مورفولوژیکی: از روش رنگ آمیزی (H&E)[1] و هیستوشیمی بافتی برای سنجش میزان و درصد نوع تارهای عضله اسکلتی استفاده شد. ابتدا نمونه های فریز شده با چسب (Tissue-Tek,Sakura, Finetechnical Company, Tokyo, Japan) برای برش آماده شدند. برش نمونه ها بر روی لام با قطر ۵ µm صورت گرفت. پس از برش نمونه ها ابتدا در استون با دمای ۲۰- ثابت شدند و سپس رنگ آمیزی صورت گرفت. برای رنگ امیزی ابتدا پروتئین های نمونه ها در هر برش با ml۵۰ (BSA 2%)[2] بلاک شدند و سپس با استفاده از آنتی بادی های اولیه زنجیره سنگین میوزین تارهای نوع I ,IIA, IIBبررسی شدند. سپس با بافر فسفات سالین ۱٪ نمونه برش ها شستشو و در نهایت با آنتی بادی های فلورسنس رنگ آمیزی شدند. پس از رنگ آمیزی اسلایدها با چسب اینتلان(Merck, Germany) ثابت شدند و برای مشاهده از میکروسکوپ نوری Optika مجهز به دوربین استفاده شد.

برای بررسی مورفومتری از دوربین دیجیتال 0ptika استفاده شد و تصاویر میکروسکوپی از سطح مقطع عرضی با استاندارد 10x و سطح مقطع طولی20x بزرگنمایی شدند. نسبت فیبرها با شمارش فیبرها در ۴ منطقه انتخاب شده به صورت تصادفی در عضلات مورد نظر بررسی شد. فیبرهای نوع I و نوع IIA وInt/HTF در عضله SOL و فیبرهای نوع I و نوع IIA و نوع IIB در عضله EDL مشاهده شدند. شایان ذکر است که پاتولوژیست نمونه ها را به صورت Blind مشاهده کرد و از گروههای مورد بررسی اطلاعی نداشت.

تجزیه و تحلیل آماری:

اطلاعات از روش آماری توصیفی به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردیدند همچنین از تحلیل واریانس یک طرفه برا ی بررسی تفاوت بین گروهها استفاده شد. بعد از اطمینان از نرمال بودن توزیع متغیرهای پژوهش، از آزمون توکی به منظور تعیین معنی دار بودن تفاوت بین میانگین ها استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری spss در سطح معنی داری $P < ۰/۰۵$ پردازش و تحلیل شدند.

نتایج

میزان وزن عضله SOL در گروه تمرین HIIT و پس از دوره تمرینی به میزان ۳۵/۰۱٪ نسبت به گروه C (۰/۲۷۷) در مقابل (۰/۱۸۱) و عضله EDL به میزان ۱۸٪ (۰/۲۳۲ در مقابل ۰/۱۸۴) نسبت به گروه C افزایش داشت (P= ۰/۰۰۲). در گروه تمرین HIIT و پس از ۷ روز بی تمرینی(TI7) نسبت به (HIIT) به میزان ۱۵٪ (۰/۲۳۶ در مقابل ۰/۲۷۷) و عضله EDL به

[1] hematoxylin and eosin (H&E).
[2] Bovin serum albumin .

میزان ۴٪ کاهش (۰/۲۲۵ در مقال ۰/۲۳۲) یافتند(P = ۰/۰۰۱). پس از ۱۴ روز بی تمرینی(TI14) نسبت به بعد از تمرین به میزان ۲۱٪ کاهش (۰/۲۱۸ در مقابل ۰/۲۳۶) و عضله EDL به میزان ۹٪ کاهش (۰/۲۱۱ در مقال ۰/۲۲۵) یافتند. میزان وزن SOL و EDL به ترتیب در گروه (TI14 نسبت به TI7) به میزان ۱۰ و ۶ درصد کاهش داشتند(P = ۰/۰۱). در کل کاهش وزن در عضله سولئوس در تمام مراحل بی تمرینی بیشتر از عضله EDL بود و بیشترین کاهش در گروه (SOL= TI14) مشاهده شد. در دوره بازتوانی در عضله SOL با (TI7) بهبودی معنادار(P = ۰/۰۱) اما گروه (TI14) معنادار نبود(۰/۵۹ =P). در دوره بازتوانی در عضله EDL با (TI7) و(TI14) بهبودی معنادار(P = ۰/۰۱). گروه EDL به بازتوانی پاسخ بهتری داد. نتایج توده عضلانی در جدول ۱ قابل مشاهده است.

جدول۱: نتایج مربوط به تغییرات وزن توده عضلانی(SOL,EDL) رت ها در گروه های تمرین، بی تمرین و بازتوانی شده

		۲۴ ساعت بعد از دوره تمرینی	۷ روز بی تمرینی	۱۴ روز بی تمرینی	۱۴ روز بازتوانی
	عضله SOL گروه کنترل	۰/۰۱۱±۰/۱۸			
	عضله EDL گروه کنترل	۰/۰۱۰±۰/۱۹			
عضله SOL,EDL گروه تمرین HIIT	گروه اولSOL	۰/۰۱۲ ± ۰/۲۷۷			
	گروه اول EDL	۰/۰۱۱ ± ۰/۲۳۲			
	گروه دومSOL		۰/۰۱۴ ± ۰/۲۳۶ *		
	گروه دومEDL		۰/۰۱۲ ± ۰/۲۲۵ *		
	گروه سومSOL			۰/۰۱۱ ± ۰/۲۱۸ *	
	گروه سوم EDL			۰/۰۱۵ ± ۰/۲۱۱ **	
	گروه چهارم SOL	✓	✓		۰/۰۱۰ ± ۰/۲۵۸ *
	گروه چهارم EDL	✓	✓		۰/۰۱۴ ± ۰/۲۲۹ *
	گروه پنجم SOL	✓		✓	۰/۰۱۴ ± ۰/۲۲۱
	گروه پنجم EDL	✓		✓	۰/۰۱۴ ± ۰/۲۲۸ *

نتایج به صورت Mean ± SD نشان داده شده است. معناداری P<0/05

نتایج تحلیل مورفولوژیکی

تحلیل های مورفولوژیکی شامل اندازه تارها،هسته ها،تقسیم سلولی، بافت پیوندی، آتروفی، هایپرتروفی، جوانه زدن سلول ها، ترشحات التهابی و سلول های چند هسته ای در عضله SOL و EDL در جدول ۲ و شکل ۱ نشان داده شده

است. در کل تمرینHIIT و بی تمرینی بر فاکتورهای مورفولوژیکی به شکل متفاوتی تاثیر گذاشته اند. بازتوانی در عضله EDL نسبت به عضله SOL تاثیرگذارتر بوده است.

جدول۲ نتایج مرفولوژیکی در عضله SOL, EDL در گروه های تمرین، بی تمرین و بازتوانی شده

	کنترل		HIIT		۷ روز		۱۴ روز		بازتوانی	
عضله	SOL	EDL	SOL	EDL	SOL	EDL	SOL	EDL	SOL	EDL
هسته مرکزی	0	0	++	++	++	++	+	+	+	+
تنوع در اندازه	+	+	++	++	++	++	+	+	+	++
جوانه زدن فیبرها	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
افزایش بافت همبند	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+
قطع قطع شدن سلول یا هسته	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
ترشحات التهابی	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
هسته های هایپرکروماتیک	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+
هسته های چندگانه	0	0	0	0	+	++	0	0	0	0
میوسیت آتروفی شده	0	0	0	0	+	+	++	++	+	+
میوسیت هایپرتروفی شده	0	0	+	++	+	++	+	0	0	+
تقسیم سلولی	0	0	0	+	0	+	0	0	0	+

صفر بدون تغییر ، +تغییرات کم ، ++ تغییرات متوسط، +++ تغییرات شدید

نتایج تحلیل مورفومتری

گروه تمرین HIIT تاثیر منفی بر اندازه تارهای واسطه ای در عضله SOL و EDL داشت. بی تحرکی بعد از تمرین سبب آتروفی تارهای نوع ۱ و ۲ شد(p = ۰/۰۰۱). بازتوانی بعد از تمرین و بی تحرکی تاثیر معناداری در قطر فیبرها نداشت. نتایج بدست آمده برای عضله SOL نشان می دهد که تمرین سبب افزایش درصد تارهای نوع IIA و کاهش تارهای نوع I در عضله SOL در مقایسه با گروه کنترل شد(P< ۰/۰۰۱). در عضله EDL تمرین سبب افزایش تارهای نوع IIB و به میزان کمتر تارهای نوع IIA شد. بی تحرکی ۷ روزه سبب کاهش تارهای نوعIIA و افزایش IIB در مقایسه با گروه تمرینی شد(P< ۰/۰۰۱).همچنین بازتوانی سبب افزایش تارهای نوع IIA و کاهش تارهای نوع IIB در مقایسه با گروه (TI) شد .

بحث

نتایج این پژوهش نشان می دهد که تمرین HIIT القاء کننده قدرتمندی در عضلات اسکلتی می باشد و این تغییرات ویژه را از طریق تغییر در ترکیب تار عضلانی تولید می کند. نتایج در پژوهش حاضر نشان می دهد که بعد از تمرینات HIIT تارهای نوع IIA در عضله سولئوس و EDL به ترتیب از ۲۷ به ۳۷ درصد و از ۳۰ به ۳۳ درصد افزایش و تارهای نوع I از ۶۸ به ۵۷ درصد و از ۳۲ به ۳۱ درصد کاهش یافته بودند.تبدیل نوع تار نشان دهنده تغییر پذیری mATPase و ایزوفرم های MHC می باشد که با نتایج مطالعات شویچی ماچیدا و همکاران (۲۰۰۴)، دسافی و همکاران(۲۰۰۵) همخوانی دارد. بی تحرکی بعد از تمرین سبب آتروفی هر ۲ نوع تار عضلانی در مقایسه با گروه کنترل شد که با نتایج پژوهش ایشیهارا و همکاران (۲۰۰۴) که

رت ها را به مدت ۱۴ روز بی تحرک کرده بودند و کاهش در نسبت تارهای نوع I مشاهده کردند، همخوانی دارد ، همچنین در پژوهش ایشیهارا و همکا ران(۲۰۰۴) آتروفی در تارهای نوع II مشاهده شد اما در پژوهش ما آتروفی در سطح مقطع هر دو نوع تار مشاهده گردید که این بعد با نتایج ایشیهارا و همکاران مطابقت ندارد. در پژوهش ایشیهارا (۲۰۰۴) به منظور بازتوانی از تمرینات دویئن استفاده شده که بسیار مؤثر بود و پژوهش ما از این بعد با نتایج ایشیهارا و همکاران (۲۰۰۴) همخوانی دارد. از طرفی بی تحرکی بعد از دوره فعالیت بدنی سبب کاهش نیروی عضلانی و کاهش در MHC تارهای نوع II شد و تمرین قبل از بی تحرکی نتوانست مانع از اثرات بی تحرکی شود، این موضوع نیز با نتایج پژوهش های هوید و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی دارد.

با توجه به مدت زمان، بی تحرکی اثرات متفاوتی بر سازگاری های مورفولوژیکی حاصل شده از تمرینات HIIT در عضلات SOLو EDL داشت. بازتوانی فقط برخی از پارامترها را که اکثراً در عضله EDL بود بهبود بخشید و تاثیر کمتری بر عضله SOL داشت. پژوهش های پیشین عنوان کرده اند که آتروفی بیشتر در تارهای عضلات کند انقباض روی می دهد به عنوان مثال ماتیلو و همکاران (۲۰۰۸) تاثیر تمرین تردمیل و تحریک الکتریکی بعد از بی تحرکی در موشها را بررسی کرده بودند و افزایش آتروفی در تارهای کندانقباض را مشاهده کردند که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی ندارد (ماتیلو وهمکاران ۲۰۰۸).

در پژوهش حاضر نتایج نشان داد که بعد از بی تحرکی سطح مقطع بطور معناداری کاهش یافت و بعد از اضافه کردن مجدد اثر بار در تمامی گروه هایی که بیش از ۷ روز بازتوانی شدند، سطح مقطع مجدداً افزایش یافت، این دست یافته با نتایج پژوهش های کازومی و همکاران(۲۰۱۲) که اثر اضافه بار بعد از یک دوره بی باری را بر روی آتروفی عضلات در موش های ویستار بررسی کرده بودند ، همخوانی دارد. همچنین در پژوهش کازومی و همکاران(۲۰۱۲) میونوکلئوس ها در گروه بی تحرک۱و ۳ روزه که بعد از این دوره بازتوانی شدند، بهبودی نداشتند اما این کاهش در گروههایی که بین ۵ تا ۱۴ روز بازتوانی شدند، بهبودی داشت (کازومی و همکاران ۲۰۱۲). در پژوهش حاضر نیز میونوکلئوس ها بعد از دوره ۱۴روزه بازتوانی بهبود یافتند که با نتایج کازومی و همکاران(۲۰۱۲) همخوانی دارد.

در پژوهش حاضر تبدیل نوع تار از I به IIA رخ داده بود. تبدیل نوع تار نشان دهنده تغییر پذیری mATPase و ایزوفرم های MHC می باشد (دسافی و همکاران ۲۰۰۵). همچنین انتقال نوع تارها احتمالاً ناشی از کاهش فعالیت اکسون های عصب رساننده به تارهای نوع I است (کازومی و همکاران ۲۰۱۱) .ما مشاهده کردیم که تعداد کل تارها در مقایسه با عضله طبیعی به طور معناداری در پاسخ به تمرین افزایش یافت. که این افزایش احتمالاً ناشی از تکثیر سلول های ماهواره ای و ساخت میوفیبریل های جدید است که با نتایج پژوهش های دسافی و همکاران(۲۰۰۵)، (ریزو و همکاران ۲۰۱۰) همخوانی دارد.

بی تحرکی ۷ روزه نتوانست نتایج ایجاد شده را دستخوش تغییر کند اما بی تحرکی ۱۴ روزه سبب تغییر در نوع تارها شد. نتایج ناسیمنتو و همکاران(۲۰۰۸) نشان داد که تمرین شنای طولانی مدت سبب افزایش تارهای نوع IIA و کاهش تارهای نوع I شد که با نتایج تمرینات HIIT در پژوهش ما همخوانی دارد از طرفی بی تحرکی ۷ روزه ناشی از گچ گیری بعد از تمرین شنا در پژوهش ناسیمنتو تغییر معناداری در نتایج حاصل شده از تمرین شنا نداشت، که با بی تحرکی ۷ روزه بدون گچ گیری در این پژوهش همخوانی دارد اما با بی تحرکی ۱۴ روز همخوانی ندارد که تفاوت احتمالاً ناشی از افزایش تعداد روزهای بی تحرکی است.

نتیجه گیری

نتایج به دست امده از رنگ آمیزی بافتی و هیستوشیمی تحلیل های مورفولوژیک نشان می دهد که عضله SOL و EDL تحت تاثیر فعالیت ورزشی قرار می گیرند اما پاسخ متفاوتی به ورزش نشان می دهند. عضله EDL در طی فعالیت ورزشی نسبت به

SOL بسیار فعالتر است و تغییرات بیشتری نسبت به SOL در تمام مراحل در ان ایجاد شد. طول مدت بی تحرکی می تواند در کاهش یا پیشگیری از آتروفی عضلانی نقش مهمی داشته باشد پروتئین های زیادی در عضله وجود دارند که نقش تخریبی دارند. این پروتئین ها سبب کاهش محتوای پروتئین های مسئول حفظ بافت عضلانی می شوند در نتیجه عدم استفاده می تواند سبب کاهش در سطح مقطع تارهای عضلانی و همینطورکاهش در تعداد میونکلئوس ها شود. همچنین نشان داده شد که تغییر در نسبت تارهای کند و تند اتفاق افتاد که این تغییر بعد از دوره تمرینی و هم بعد از دوره عدم استفاده به صورت معکوس روی داد. بنابراین آتروفی نقش مهمی در وضعیت های پاتولوژیکی و طبیعی دارد که منجر به کاهش بافت عضلانی و از دست دادن قدرت و توانایی عضله می شود. تغییرات در اندازه فیبرهای عضلانی به دنبال فعالیت و عدم فعالیت در مطالعات مختلفی گزارش شده است. با این وجود نتایج متفاوت و مکانیسم مولکولی به طور کامل درک نشده است چون MHC فراوانترین پروتئین در عضله است پلی مورفیسم آن بر واحدهای انقباضی، متابولیکی و نسبت اندازه تارها اثر می گذارد(گیبالا و همکاران ۲۰۱۳). بنابرای مطالعه MHC با دیگر فاکتورهای مرتبط انقباضی و متابولیکی به طور همزمان ضروری به نظر می رسد. در کل کاهش در سطح مقطع تارهای عضلانی سبب کاهش قدرت و فعالیت لکوموتور می گردد که در شرائط عادی و ورزشی بسیار حائز اهمیت است(ریزو وهم کاران ۲۰۱۰). مدیریت در شرائط بحرانی می تواند سبب ریکاوری بهتری در شرائط عدم استفاده شود و از توسعه آتروفی عضلانی جلوگیری کند.

منابع

1-Araujo, De. Gustavo,G , Marcelo, P. Ivan Gustavo, M .(2016) “ Short and Long Term Effects of High-Intensity Interval Training on Hormones, Metabolites, Antioxidant System, Glycogen Concentration, and Aerobic Performance Adaptations in Rats” Front Physiol, 26, ,: 505.

2-Burniston, JG .(2009) “ Adaptation of the rat cardiac proteome in response to intensity-controlled endurance exercise. Proteomics”, Proteomic and system biology, 9(1),106-15.

3-Cornachione. A, Cação-Benedini, LO. Shimano, MM. Volpon, JB.(2008) “Morphological comparison of different protocols of skeletal muscle remobilization in rats after hindlimb suspension”, Scand J Med Sci Sports;18,453-61.

4-Caron, Az. Drouin, ., Desrosiers, J. Trensz, F. Grenier, G.(2009) “A novel hindlimb immobilization procedure for studying skeletal muscle atrophy and recovery in mouse”, J Appl Physiol;106,2049-59.

5-Christensen, B. Dyrberg, E. Aagaard, P. Kjaer, M. Langberg, H. (2008) “ Short-term immobilization and recovery affect skeletal muscle but not collagen tissue turnover in humans”, J Appl Physiol;105,1845-51.

6-Desaphy, J. Piernos, S. Liantonio, A.(2005) “ Recovery of soleuse muscle after short and long term disuse induced hindlimb unloading effects on the electrical properties and MHC profile”. Neurobiol Dis, 18 :356-365.

7-Desanka, T. Dimov, I. Petrović, Vl. Savić, T. (2011) "Fiber Type Composition and Size of Fibers in the Rat Tibialis Anterior Muscle", Acta Facultatis Medicae Naissensis", 28 , 3, 161-168.

8-Fry, CS. Noehren, B. Mula, J. Ubele, M. Westgate,P. (2014) " Fibre type-specific satellite cell response to aerobic training in sedentary adults", The Journal of physiology,592(12):2625-35.

9-Fujita, N. Murakami, S. Arakawa, T. Miki, A. Fujino, H. (2011) " The combined effect of electrical stimulation and resistance isometric contraction on muscle atrophy in rat tibialis anterior muscle.Bosn", J Basic Med Sci;11:74-9.

10-Gibala, M. J. Jones, A.M. (2013) "Physiological and performance adaptations to high-intensity interval training", Nestle Nutr. Inst ,76: 51–60.
Geeves MA. (2016), "Review: The ATPase mechanism of myosin and actomyosin" Biopolymers, 105(8),483-91

11-Hudson, NJ. Franklin, CE.(2002) " Maintaining muscle mass during extended disuse: aestivating frogs as a model specie",. Journal of Experimental Biology, 205, 2297-2303.

12-Hvid, L. G. Ørtenblad N, Aagaard P, Kjaer M, Suetta C.(2011) " Effects of ageing on single muscle fibre contractile function following short-term immobilization", J Physiol ,589.4745-57.

13-Ilkovski, B. Clement, S. Swery, ., Kathryn, N. Sandra, T.(2005) " Defining a-skeletal muscle and a-cardiac actin expression in human heart and skeletal muscle explains the absence of cardiac involvement in ACTA1 nemaline", myophaty, 3, 829-835

14-Ishihara, A. Kawano, F. Ishioka, N. Oishi, H. Higashibata, A (2004) " Effects of running exercise during recovery from hindlimb unloading on soleus muscle fibers and their spinal motoneurons in rats", Neurosci Res , 48, 119-127.

15-Ju, Y . Son. Okamoto, Y. Fukunaga, M.(2008) " Jump exercise during remobilization restores integrity of the trabecular arcHIITecture after tail suspension in young rat",. J Appl Physiol ,104,1594-600.

16- (2012) "The Effect of Reloading on Disuse Muscle .Kazumi, Z. and Toshiak,i Y on the Myofiber Cross- Atrophy:Time Course of Hypertrophy and Regeneration Focusing Changes", J Jpn Phys Ther Assoc, 15, 1–8. sectional Area and Myonuclear

17- Kasper, CE. Talbot, LA. Gaines, JM. (2005) "Skeletal muscle damage and recovery", AACN Clin Issues ,13, 237-47.

18-Koulmann, N. Bigard, AX. (2006) "Interaction between signalling pathways involved in skeletal muscle responses to endurance exercise", Pflugers Arch, 452, 125-139.

19-Machida, S. and Booth, B. (2004) " Regrowth of Skeletal Muscle Atrophied from Inactivity". Med. Sci. Sports Exerc, 36, 1, 52–59.

20-Matsakas, A. Friedel, A. Hertrampf, T. Diel, P.(2005) " Short-term endurance training results in a muscle-specific decrease of myostatin mRNA content in the rat",Acta Physiol Scand, 183, 299-307

21- Matsakas. A, Bozzo, C. Cacciani, N. Caliaro, F. Reggiani, C. (2006) " Effect of swimming on myostatin expression in wHIITe and red gastrocnemius muscle and in cardiac muscle of rats". Exp Physiol, 91,983-994.

22-Mattiello, AC. Carvalho, LC. Cornachione, A. Nagashima, ., Neder, L.(2006) " Morphological effects of electrical stimulation and intermittent muscle stretch after immobilization in soleus muscle" Histol Histopathol, 21, 957-964.

23-Min, K. Smuder, AJ. Kwon, OS. Kavazis. AN. Szeto, HH. Powers, SK. (2011) "Mitochondrial-targeted antioxidants protect skeletal muscle against immobilization-induced 111,1459-66. muscle atrophy", J Appl Physiol ,

24- Nascimento, C. Padula, D. Milani, GJ. Shimano1, A.C. (2008) " Histomorphometric analysis of the response of rat skeletal muscle to swimming, immobilization and rehabilitation" Braz J Med Biol Res, 41, 818-824.

25-Pette D, Staron RS.(2000), " Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions" , Microscopy research and technique, 50(6):500-9,

26-(2016) "Prior swimming exercise .Petrini, A.C. Ramos,D. de Oliveira,L. da Silva1, C favors muscle recovery in adult female rats after joint immobilization", J. Phys. Ther. Sci, 28, 2072–2077.

27-Riso, E.-M. Ahtikoski, A. Takala, T. Seene, T. (2010) " The effect of unloading and reloading on the extracellular matrix in skeietal muscle: changes in muscle strength and motor activity",Biol. Sport, 2,:89-94.

28-Rosent, C. Nagel, MD. Perot, C. (2006) "Adaptation of rat soleus muscle spindles after 21 days of hindlimb unloading". Experimental Neurology, 200, 191-19.9

29-Silvia, L. Anamaria, M. Cassiane, M Na. (2013) "Evaluation of histomorphometric parameters of rat's soleus, submitted to jump remobilization in the aquatic environment", Exercise and sport science.Rev Bras Med Esporte, 19, 3,155.

30-Tidball, JG.(2005)."Mechanical signal transduction in skeletal muscle growth and adaptation", J Appl Physiol, 98,1900-8.