



## اثر ۱۶ هفته تمرین ورزشی پیش‌رونده بر بیان ژن‌های پیش‌بینی کننده بروز درد در اندام تحتانی دانشجویان دانشگاه افسری امام علی (ع)

سجاد محمد یاری: استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشگاه افسری امام علی (ع)، تهران، ایران

محمد رضا ایزدی: دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران (\* نویسنده مسئول)  
m-izadi@phdstu.scu.ac.ir

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

تمرین پیش‌رونده،

پلی مورفیسیم،

دانشجویان نظامی،

درد اندام تحتانی،

Booster session

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۱۰

تاریخ چاپ: ۹۹/۱۲/۰۶

**زمینه و هدف:** هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر ۱۶ هفته تمرین‌های ورزشی پیش‌رونده بر بیان ژن‌های پیش‌بینی کننده ایجاد درد در اندام تحتانی دانشجویان دانشگاه افسری امام علی (ع) بود.

**روش کار:** پژوهش حاضر از نوع نیمه تجربی است. تعداد ۱۰۰ دانشجوی سال اول دانشگاه افسری امام علی (ع) به شکل تصادفی به سه گروه کنترل ( $n=37$ )، گروه تمرین پیش‌رونده ( $n=33$ ) و گروه تمرین پیش‌رونده+booster session (جلسه-های تمرینی با شدت دو برابر) ( $n=30$ ) تقسیم شدند. برای بررسی بیان ژن‌های SMAD3، GDF5 و ASPN از تکنیک Real-time PCR استفاده شد. داده‌ها با بکارگیری از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ در سطح معناداری  $P \leq 0.05$  تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** نتایج پژوهش نشان داد بیان ژن ASPN در گروه تمرین+booster session در مقایسه با گروه تمرین و نسبت به گروه کنترل به ترتیب تفاوت معناداری وجود داشت ( $P \leq 0.05$ ). بیان ژن SMAD3 در گروه تمرین+booster session در مقایسه با گروه تمرین تفاوت معناداری وجود داشت ( $P \leq 0.05$ ) و در قیاس با گروه کنترل تفاوت معناداری وجود نداشت ( $P \geq 0.05$ ). بیان ژن GDF5 گروه تمرین+booster session در مقایسه با گروه تمرین ( $P \leq 0.02$ ) و نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری وجود داشت ( $P \leq 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین‌های پیش‌رونده می‌تواند بیان ژنی پلی‌مورفیسیم‌های مرتبط با بروز درد در مفصل زانو را تعدیل کند. در نتیجه بهتر است از ترکیب تمرین‌های پیش‌رونده با جلسه‌های booster session استفاده شود.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت کننده:** حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Mohammad Yari S, Izadi MR. Effect of 16-week progressive exercise training on expression of pain predicting genes in lower limb military students of Imam Ali officers' academy. Razi J Med Sci. 2021;27(12):42-51.

\*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

## Effect of 16-week progressive exercise training on expression of pain predicting genes in lower limb military students of Imam Ali officers' academy

**Sajjad Mohammad Yari:** Assistant Professor, Department of Physical Education and Health, Imam Ali Officers' Academy, Tehran, Iran

**Mohammad Reza Izadi:** PhD, Department of Exercise Physiology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran (\*Corresponding author) [m-izadi@phdstu.scu.ac.ir](mailto:m-izadi@phdstu.scu.ac.ir)

### Abstract

**Background & Aims:** Knee pain is one of the most common pains complained of by military officer's students. Musculoskeletal injuries due to increased load are the reason for the loss of a significant part of the useful time of basic military training and are one of the important reasons for reducing the use of military training. One of the important genetic indicators that SMAD3, GDF5, and asporin (ASPN) genes have been studied to predict the incidence of joint pain and osteoarthritis, especially in the knee joint. This study aimed to investigate the changes in the expression of genes that predict the incidence of pain in the lower extremities after 16 weeks of progressive exercise. D14 paid for the aspirin gene (ASPN).

**Methods:** The statistical population of the present study was the students of Imam Ali (AS) Military University. Inclusion criteria were no abnormalities in the lower limbs that could be seen by visual and functional assessments. He was in good health and had no history of surgery or trauma injuries in the past six months. A total of 100 students were randomly selected and volunteered to complete their research by completing a research application form. Subjects were randomly divided into three groups: training intervention, training intervention with booster session, and control. To determine the genotype of each subject, after 12 hours of fasting, 10 ml of venous blood was taken at 8 am in the University Medical Center by a laboratory science expert under the supervision of a physician and used to extract DNA. Blood sampling was taken twice, the first time before the start of the training intervention and the second time after 16 weeks of training, and one day after the last day of training. DNA was extracted from blood leukocytes by the salting-out method. After digestion of DNA with a type of shear enzyme, a large number of fragments of different lengths were obtained, and then these fragments were separated using agarose gel, which was possible to identify a specific fragment using direct and inverse primers. Some of the SMAD3, GDF5, and ASPN genes containing the studied polymorphisms were amplified by PCR technique. The exercises were held in four levels and each level was performed with a specific purpose for a period of one month. From the first to the fourth level, the exercises are progressive. The sessions were conducted three sessions per week and each session lasted for 60 minutes. In the group that did the + booster session, the subjects in the last training session of each week did the exercises of that week with twice the duration of each set in the first sessions. But the booster session group did the exercises without changing the time. To evaluate and determine the intensity of sports activity, a Polar telemetry clock was used for several subjects, which was

### Keywords

Progressive Exercise Training, Polymorphism, Military Students, Lower Limb Pain, Booster Session

Received: 31/10/2020

Published: 24/02/2021

used to control and monitor changes in subjects' heartbeats.

**Results:** Results showed that SMAD3 gene expression in the training + booster session group was significantly different from the training group and there was no significant difference compared to the control group ( $P \geq 0.05$ ). Also, the expression of the SMAD3 gene in the exercise group was significantly different from the control group ( $P \leq 0.05$ ). ASPN gene expression in the training + booster session group was significantly different from the training group and the control group ( $P \leq 0.05$ ). There was a significant difference in the expression of gene expression in the exercise group compared to the control group ( $P \leq 0.05$ ). GDF5 gene expression in the training + booster session group was significantly different from the training group and the control group ( $P \leq 0.05$ ). There was a significant difference in gene expression of the exercise group compared to the control group ( $P \leq 0.05$ ).

**Conclusion:** Progressive training seems to have two special features that distinguish this type of exercise from other types of exercise programs. The first proposition is that in this type of exercise, stretching or stretching combined with resistance activities usually bears the weight of the body, which combines the characteristics of resistance training and stretching exercises. Also involved in this type of exercise are the tiny muscles, which in turn are important in the development of common deep pain. The second proposition is the activation of profundity receptors in this type of exercise. These receptors are activated during imbalance and protect the muscle and joint from injury when there is an imbalance of weight and joint angle. Given that the expression of ASPN and GDF5 genes in the exercise groups with booster session was significantly reduced compared to the group with the exercise program alone, it is possible that the intensity of the exercise program can be effective in changing the expression of genes predicting pain. . In the booster sessions, the intensity of the exercises increased with the increase of training sets. Studies that have reported booster sessions in training sessions have also reported improved patient rehabilitation and pain relief, especially in the lower extremities. Therefore, it can be concluded that progressive exercise can modulate the gene expression of polymorphisms associated with pain in the lower extremities, especially the knee joint. As a result, it is better to use a combination of progressive exercises with booster sessions, and in the military, including officer students, operational forces and even staff can be a factor to prevent pain in the lower extremities, especially in the area. Be on your knees.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

**Cite this article as:**

Mohammad Yari S, Izadi MR. Effect of 16-week progressive exercise training on expression of pain predicting genes in lower limb military students of Imam Ali officers' academy. *Razi J Med Sci.* 2021;27(12):42-51.

**\*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.**

## مقدمه

درد نشانه‌ای از وجود یک محرک آسیب‌زا است و در آسیب‌دیدگی‌های موضعی، الگویی از پاسخ‌ها را برای حفاظت فرد فعال می‌سازد (۱). دردهای بخش زانو از شایع‌ترین دردهایی است که دانشجویان دانشگاه‌های افسری از آن شکایت دارند (۲). این دردها ناشی از تمرین‌های رژه، حمل بار در مسافت‌های طولانی و استفاده بیش از حد از اندام‌های پائینی می‌باشد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد آسیب‌های اسکلتی-عضلانی ناشی از افزایش بار، زمینه از دست رفتن بخش قابل‌توجهی از زمان مفید دوره آموزش‌های نظامی پایه می‌شود و از چرایی‌های مهم کاهش سودمندی آموزش‌های نظامی می‌باشد (۳). نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد شایع‌ترین علت آسیب‌های اسکلتی-عضلانی و شیوع دردهای عضلانی در نظامیان تحت آموزش، به سندرم درد پاتلوفمورال یا درد کشکی-رانی (PFPS) نسبت داده شده است (۴-۶).

آرایش عظیمی از فنوتیپ‌ها و تنوع‌های ژنتیکی متعددی برای پیش‌بینی بروز دردهای مزمن شناخته شده است. پژوهش‌ها نشان می‌دهند ژن‌هایی مرتبط با بروز درد در ناحیه زانو وجود دارد (۷). یکی از شاخص‌های مهم ژنتیکی که در زمینه پیش‌بینی بروز دردهای مفصلی و استئوآرتریت به ویژه در مفصل زانو مورد بررسی قرار گرفته است ژن‌های SMAD3، GDF5 و ASPN (aspirin) می‌باشد (۸-۱۱). پژوهشگران بیان ژن این سه ژن را در جمعیت‌های گوناگون بررسی کرده‌اند و از تأثیر به‌سزای آن در شیوع درد و ابتلا به استئوآرتریت اشاره کرده‌اند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد بروز درد به‌وسیله سازه‌های ژنتیک و محیط کنترل می‌شود (۸). اثر این سه ژن بر ماتریکس خارج سلولی و کلاژن نوع II تأثیر می‌گذارد که در روند بروز استئوآرتریت دخیل هستند. GDF5 در افزایش و نگهداری و بازسازی استخوان، غضروف و بافت‌های سینوویال نقش دارد و جهش ژن GDF5 سبب طیف گسترده‌ای از اختلال‌های اسکلتی در انسان شده است (۱۲). برخی پژوهش‌ها ارتباط قوی بین ژن GDF5 با استئوآرتریت را نشان می‌دهند. استخراج تغییرات توالی در اگزون و مناطق طرفین از ژن GDF5 و شناسایی پلی مورفیسم rs143383 به‌طور معناداری با

استئوآرتریت لگن همراه بود. تنوع ژنتیکی GDF5 با خطر دیسک کمری، خطر شکستگی، دررفتگی مادرزادی مفصل ران و آسیب تاندون آشیل همراه باشد (۱۲، ۱۳). در ارتباط با ژن ASPN نیز عنوان شده است زمانی که این ژن بر روی آلل D14 بیان شود، شانس بروز استئوآرتریت افزایش می‌یابد و به تبعیت از آن، سبب بروز دردهای کشکی رانی در جمعیت‌های میان‌سال و حتی جوان خواهد شد (۱۰، ۱۱). همچنین ژن SMAD3 به‌صورت خاص در عضلات اسکلتی بیان می‌شود و در زمانی که پیچیده مسیر پیام‌رسانی با GDF5 تشکیل می‌دهد، در هسته سلول عضلانی سبب بیان ژن‌های SMAD3 در سلول عضله می‌شود و شاخصی به‌عنوان شاخص بروز دردهای اسکلتی-عضلانی شناخته می‌شود (۸، ۹).

شروع درد می‌تواند علایم شروع یک آسیب باشد، شناختن علت و بی‌توجهی به پدیده درد می‌تواند شانس بروز آسیب را افزایش دهد و بروز درد نیز فرد نظامی را از انجام فعالیت‌های کاری روزانه باز می‌دارد (۱۴)؛ بنابراین پیشگیری به‌عنوان ارزان‌ترین، راحت‌ترین و به‌صرفه‌ترین راه برای جلوگیری از ورود فرد به فاز بستری و استراحت مطلق پیشنهاد می‌شود. روش‌های غیر تهاجمی و در دسترس نیز از بهترین روش‌هایی است که هر سازمان می‌تواند با صرف حداقل هزینه و با کمک متخصصان در نیروی انسانی خود اجرایی سازد. از این میان روش‌های تمرینی یکی از مؤثرترین راه‌هاست که هدف پیشگیری از بروز درد را عملی می‌سازد. پژوهش‌های گذشته به‌طور معمول اثرات تمرین درمانی را بعد از بروز درد و عارضه بررسی کرده‌اند (۱۵) و در پژوهش‌های اندکی به اجرای تمرین‌های ورزشی برای پیشگیری از بروز درد و آسیب پرداخته‌اند که به‌طور معمول در ورزشکاران رشته‌های ورزشی بوده است و کمتر به نیروهای نظامی و به‌خصوص دانشجویان دانشگاه‌های افسری پرداخته شده است. تمرین‌های پیش‌رونده تمرین‌هایی هستند که از سطوح مختلفی تشکیل می‌شود. از مهم‌ترین مزایای تمرین‌های پیش‌رونده در پیشگیری از آسیب‌ها و دردهای ناشی از فعالیت‌های مداوم و شدید در نیروهای نظامی و به‌خصوص دانشجویان نو ورود به دانشگاه‌های افسری می‌باشد چراکه طبق پیشینه پژوهش‌های انجام

پژوهشی آمادگی خود را برای شرکت در این پژوهش اعلام کردند. افراد به شکل تصادفی به سه گروه مداخله تمرینی، مداخله تمرینی با booster session و کنترل تقسیم شدند. ویژگی‌های ریخت‌شناسی افراد شرکت‌کننده در جلسه اول اخذ شد. پژوهش حاضر در پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی بررسی و با شناسه اخلاق IR.SSRC.REC.1398.121 مصوب گردید.

برای تعیین ژنوتیپ از هر یک از افراد مورد پژوهش پس از ۱۲ ساعت ناشتا بودن، ۱۰ میلی لیتر خون سیاهرگی در ساعت هشت صبح در مرکز بهداری دانشگاه توسط کارشناس علوم آزمایشگاهی و زیر نظر پزشک گرفته و برای استخراج DNA استفاده شد. خون‌گیری در دو نوبت، نوبت اول پیش از شروع مداخله تمرینی و نوبت دوم پس از ۱۶ هفته تمرین و یک روز پس از آخرین روز تمرینی گرفته شد. DNA با روش salting out از سلول‌های هسته‌دار لکوسیت‌های خون استخراج شد. پس از هضم DNA با یک نوع آنزیم برشی، تعداد زیادی قطعه با طول متفاوت به دست آمد و سپس این قطعات با استفاده از ژل آگاروز از هم جدا شدند که شناسایی و تشخیص یک قطعه خاص با استفاده از پرایمرهای مستقیم و معکوس امکان‌پذیر بود. قسمتی از ژن‌های GDF5، SMAD3 و ASPN حاوی چندشکلی‌های مورد بررسی از تکنیک PCR تکثیر شد. اجرای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با غلظت نهایی ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از دستگاه Thermal Cycler مدل T100 شرکت Biorad ساخت کشور آمریکا انجام شد. پس از اتمام PCR، محصول PCR طبق پروتکل تحت تأثیر آنزیم برشی پلاسمید نوترکیب توسط آنزیم‌های BamHI, SacI ساخت شرکت Fermentas کشور چین هضم گردید تا در صورت بروز جهش توسط آنزیم هضم گردد. cDNA سنتز شده برای SMAD3، GDF5 و ASPN با ۴۰ میکرولیتر RNase & DNase-free water رقیق شد و ۱/۵ میکرولیتر از هر یک از رقت‌ها به همراه ۷/۵ میکرولیتر Master Mix تولیدی از ampliqon ساخت کشور دانمارک و یک میکرولیتر از پرایمرهای Forward و یک میکرولیتر از پرایمر backward در چهار میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز برای رسیدن به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به خوبی حل و

شده، دربردارنده همه انواع تمرین‌های پیشگیری‌کننده از بروز درد می‌باشد (۱۶). این تمرین‌ها ترکیبی از تمرین‌های زنجیره بسته، تمرین‌های کششی پویا و ایستا، تمرین‌های تقویتی، تمرین‌های عمقی-مرکزی و تمرین‌های عصبی عضلانی است. ایده استفاده از Booster session یا جلسه‌های پایش و پیمایش نیز در این پژوهش مطرح می‌شود. Booster session جلسه‌ای است که دانشجویان افسری مجموع یادگیری‌های خود را بعد از انجام هر سطح، به صورت فشرده و شدیدتر انجام می‌دهند. پژوهشگران علت احتمالی تأثیر مثبت تمرین‌های پیش‌رونده در پیشگیری از بروز درد و حتی کاهش درد مبتلایان به دردهای مفصلی اندام پائینی را به نقش این نوع از تمرین‌ها در فعال کردن عضلات ریز اطراف مفصل و نیز تقویت عضلات پایدارکننده اطراف مفصل عنوان کرده‌اند (۶، ۱۶).

پژوهش‌های پیشین به طور معمول پلی مورفیسم‌های ژن‌های GDF5، SMAD3 و ASPN را برای شناسایی عوامل پاتولوژیک دردهای مفصلی، دردهای کمر و استئوآرتریت بررسی کرده‌اند و در جمعیت‌های نظامی به طور معمول این عوامل را بر روی دردهای کمری بررسی شده است (۱۷). همچنین، تمرین‌های پیش‌رونده و اثرات آن بر روی ژن‌های یاد شده تا کنون بررسی نشده است؛ بنابراین در پژوهش حاضر تغییرات بیان ژن‌های پیش‌گویی‌کننده بروز درد در اندام پائینی پس از ۱۶ هفته فعالیت ورزشی پیش‌رونده بررسی شد و پژوهش حاضر به بررسی بیان ژنی پلی مورفیسم‌های rs143383 برای ژن GDF5، پلی مورفیسم rs12901499 برای ژن SMAD3 و آلل D14 برای ژن اسپورین (ASPN) پرداخت.

## روش کار

جامعه آماری پژوهش حاضر دانشجویان دانشگاه افسری امام علی (ع) بود. معیارهای ورود به پژوهش، نداشتن ناهنجاری در اندام‌های پائینی که با ارزیابی‌های دیداری و عملکردی قابل مشاهده باشد، بودن داشتن سلامت عمومی و نداشتن سابقه جراحی یا صدمه‌های ناشی از ضربه‌ها در طی شش ماه گذشته بود. تعداد ۱۰۰ نفر از دانشجویان به شکل تصادفی انتخاب شدند و داوطلبانه با تکمیل فرم رضایت‌نامه همکاری در کار

جدول ۱- توالی پرایمری ژن‌های مورد پژوهش حاضر

ژن	توالی پرایمر (3' → 5')	اندازه (bp)
ASPN	Forward: TGAGGGAAGAGTAGGTGGTTAA Reserve: TTAACAAACACCAAAAACTAAAA	201
GDF5	Forward: TGGATAAGGAATTGTGGTAGTTT Reserve: ACAACAAATTACAAACCCCAAC	341
SMAD3	Forward: GTCCACCTTCTACCTTCCT Reserve: ATTGCCCACTCTCCAGTGC	163
GAPDH	Forward: GAAGGTGAAGGTCGGAGTCA Reserve: TTGAGGTCAATGAAGGGGTC	109

نشستن V شکل، کرانچ قیچی، تمرین تعادل با استفاده از صفحه تعادل و صفحه تعادل نیم‌کره‌ای بود. این تمرین‌ها در پنج دست و هر دست پنج بار و هر بار ۱۰ تا ۳۰ ثانیه با رعایت اصل اضافه بار انجام شد. در سطح دوم، تقویت ایستای عضلات اندام پائینی در زنجیره باز انجام می‌شود. هدف از این سطح، تقویت ایستا در عضلات بزرگ اندام پائینی است. تمرین‌ها این سطح شامل باز کردن زانو (فعال شدن عضلات همسترینگ) با چرخش خارجی ساق و ران در زوایای ۳۰، ۴۰ و ۶۰ درجه، صاف کردن زانو در حالت خوابیده و نزدیک کردن دو پا در حوالت خوابیده برای تقویت نزدیک کننده‌ها با یک توپ بود. هر تمرین ۱۰ تکرار در زمان ۱۰ تا ۳۰ ثانیه با رعایت اضافه بار انجام شد. در سطح سوم، تمرین‌های زنجیره بسته با هدف هماهنگی در زمان بندی و هم انقباضی عضلات است انجام می‌شود که در آن عضلات بزرگ با تحمل وزن بدن آزمودنی تقویت می‌شود. تمرین‌هایی از جمله حرکت شمشیر باز (لانچ)، چمباتمه چسبیده به دیوار با یک پا، بلند شدن از حالت نشسته با یک پا، تحمل کل وزن بدن بر روی انگشتان پا و بر روی پاشنه. در این سطح بر زوایای حرکتی ۳۰ و ۴۵ درجه و بار اضافه می‌شود. در سطح چهارم، تمرین‌های با رویکرد عصبی-عضلانی با هدف آمادگی عضلات با تغییر مسیرهای سریع و انفجاری می‌باشد. این سطح شامل تمرین‌های دو وظیفه‌ای تعادل بر روی یک پا، نشست و برخاست‌های ایستگاهی با دوییدن بین موانع، تمرین‌های زیگزاگی، تغییر جهت‌های ۱۸۰ درجه‌ای در مسافت‌های کوتاه و عبور از موانع با پرش‌های تک پا (به سمت جلو و عقب و بالا و پایین سکوه‌های تمرینی) بود. هر تمرین ۱۰ تکرار تا ۱۵ تکرار در زمان ۲۰ تا ۳۰ ثانیه با رعایت اضافه بار انجام

مخلوط شد. محصول نهایی ژل آگاروز باندهایی است که میزان بیان ژنی را نمایش داد. تمام واکنش‌ها به شکل دوتایی انجام شد. در نهایت میکروتیوپ‌ها در محل مخصوص خود در دستگاه قرار داده شد و واکنش‌های تکثیر در طی ۴۰ سیکل بر اساس دستورالعمل سازنده کیت انجام شد. برای کنترل داخلی از ژن GAPDH استفاده شد و جهت کنترل کیفی محصول واکنش GAPDH مربوط به نمونه بر روی ژل دو درصد انتقال داده شد و از نظر وجود و یا عدم وجود محصول بررسی شد. جدول ۱، پرایمرهای مستقیم و معکوس مورد استفاده در پژوهش را به تفکیک نشان می‌دهد.

اولین هفته از هر سطح یک ماهه، همراه با اجرای مربی، تمرین‌ها اجرا شد و در هفته‌های بعدی خود آزمودنی تمرین‌ها را با نظارت مربی انجام دادند. برای گرم کردن، دانشجویان ۷ دقیقه دوییدن نرم انجام دادند. تمرین‌های پویا با هدف خون‌رسانی به عضلات شامل دوییدن نرم، زانو بلند از پشت با حرکت به سمت جلو و عقب، زانو بلند، پروانه و کشش پویا شامل کشش پویای عضلات پشت ساق در حالت زانوی خم و صاف، حرکات پاندولی شامل دور کردن، نزدیک کردن، خم کردن، باز کردن و حرکت لانچ در ابتدای برنامه‌ی همه جلسه‌ها اجرا شد.

تمرین‌ها در چهار سطح برگزار و هر سطح با مدت زمان یک ماه با هدفی خاص اجرا شد. از سطح اول تا چهارم تمرین‌ها به صورت پیش‌رونده هستند. در سطح اول تمرین‌ها با هدف تقویت عضلات عمقی-مرکزی و عضلات موثر در ایجاد تعادل اندام پائینی انجام شد. در این سطح تقویت عضلات تک مفصلی اصلی و اولیه ثابت دهنده تنه و اندام پائینی انجام شد. این تمرین‌ها شامل پل زدن، تمرین ثابت مرکزی بدن (پلانک)،

شد (۱۷،۱۶). مورد نظر توسط فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  و مقادیر تغییرات چند برابری محاسبه شد. داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. داده‌ها به صورت انحراف استاندارد  $\pm$  میانگین گزارش شدند. سطح معناداری در آزمون‌ها  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد. همه نمودارها با نرم افزار Graph pad prism نسخه ۸ رسم شد.

### یافته‌ها

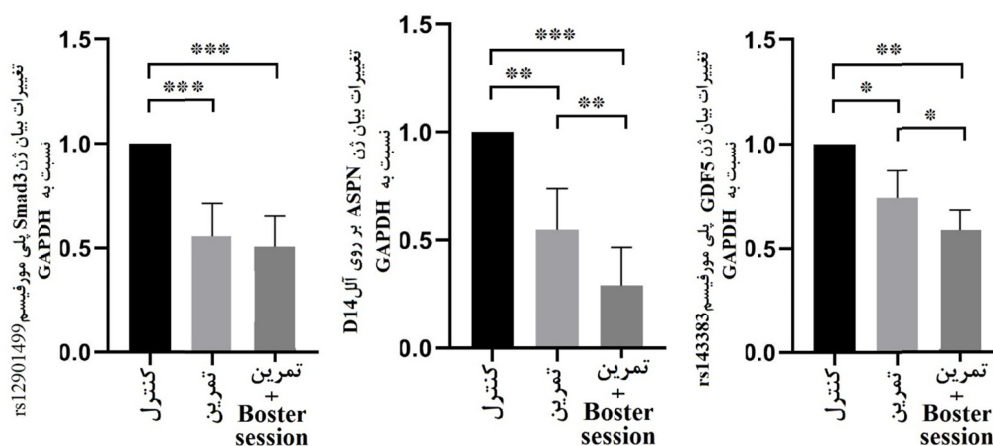
بیان ژن SMAD3 در گروه تمرین+ booster session در مقایسه با گروه تمرین، تفاوت معناداری داشت و نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری وجود نداشت ( $p \geq 0/05$ ). همچنین بیان ژن SMAD3 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنادار داشت ( $p \leq 0/05$ ).

در گروهی که تمرین+ booster session انجام دادند، آزمودنی‌ها در جلسه آخر تمرینی هر هفته، تمرین‌های آن هفته را با دو برابر مدت زمان هر ست در جلسات اول انجام می‌دادند؛ اما گروه تمرینی بدون booster session تمرین‌ها را بدون تغییر در زمان انجام دادند. برای ارزیابی و تعیین شدت فعالیت ورزشی، از ساعت تله‌متری پلار برای تعدادی از آزمودنی‌ها استفاده شد که با استفاده از این دستگاه تغییرات ضربات قلب آزمودنی‌ها کنترل و پایش شد. همچنین از مقیاس ده ارزشی بورگ برای ارزیابی سطح درک فشار نیز استفاده شد.

**تحلیل آماری:** داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ محاسبه و تحلیل شد. کمی سازی بیان ژن‌های

**جدول ۲- نتایج آزمون تعقیبی Tukey جهت مشخص شدن تفاوت مقایسه میانگین به تفکیک گروه‌ها برای مقادیر بیان ژنی**

متغیر	گروه	گروه‌ها	تفاوت میانگین‌ها	خطای استاندارد	سطح معناداری
SMAD3	کنترل	تمرین	-۰/۱۸۸۳۳	۰/۱۴۵۲۳	$P=0/001$
	تمرین+ booster session	تمرین	-۰/۳۶۶۶۷	۰/۱۴۵۲۳	$P=0/07$
ASPN	تمرین	تمرین+ booster session	۰/۱۸۸۳۳	۰/۱۴۵۲۳	$P=0/0002$
	کنترل	تمرین	-۰/۱۷۸۳۳	۰/۱۴۵۲۳	$P=0/003$
	تمرین	تمرین+ booster session	۰/۳۶۶۶۷	۰/۱۴۵۲۳	$P=0/001$
	تمرین	تمرین+ booster session	۰/۱۷۸۳۳	۰/۱۴۵۲۳	$P=0/004$
GDF5	کنترل	تمرین	-۰/۱۸۸۳۳	۰/۱۴۵۲۳	$P=0/03$
	تمرین+ booster session	تمرین	-۰/۳۶۶۶۷	۰/۱۴۵۲۳	$P=0/001$
	تمرین	تمرین+ booster session	۰/۱۸۸۳۳	۰/۱۴۵۲۳	$P=0/02$



### نمودار ۱- تغییرات بیان ژنی گروه‌های کنترل، تمرین و تمرین+ booster session

(a) میزان تغییرات mRNA ژن ASPN، (b) میزان تغییرات mRNA ژن smad3 و (c) میزان تغییرات mRNA ژن GDF5 را نشان می‌دهد. روش آماری: آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey. نمودار به صورت انحراف معیار  $\pm$  میانگین رسم شده است.  $p < 0/05$ ,  $**p < 0/01$ ,  $***p < 0/001$

این ژن، شاید بتوان به نقش تمرین‌های پیش‌رونده در تعدیل بیان ژن عامل درد ASPN اشاره کرد (۱۹).

افزایش بیان ژنی آلل‌ها و پلی‌مورفیسم‌هایی که در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفت استعداد ابتلای جمعیت‌های انسانی را به دردهای اندام‌های پایین تنه را افزایش می‌دهد. سازوکارهای دخیل در این رابطه قبلاً بررسی شده است؛ اما در پژوهش حاضر در گروه‌هایی که به اجرای تمرین‌های سطح بندی شده‌ی پیش‌رونده پرداختند، تعدیل این پلی‌مورفیسم‌ها را در پی داشتند. به‌طور ویژه، گروهی که به اجرای تمرین‌های پیش‌رونده با یک جلسه Booster session در هفته پرداخت، بیشتر از سایر گروه‌ها تعدیل بیان ژن‌ها مرتبط با درد را در جمعیت دانشجویان افسری نشان داد. پژوهش‌های گذشته نشان داده‌اند تمرین‌های ورزشی پیش‌رونده با تأثیر بر سیستم عصبی-عضلانی و تقویت عضلات ریز، عمقی و تک مفصلی، دردهای اندام پایین تنه را در گروه ورزشکاران و نظامیان کاهش می‌دهد (۱۶)؛ اما در ارتباط با تأثیر این تمرین‌ها بر تعدیل بیان ژن‌های مرتبط با بروز درد و استعداد ایجاد درد، باید پژوهش‌ها را با ژانگ و همکارانش را مثال زد. در پژوهش وی که در افراد سالمند چاق با سابقه درد اندام تحتانی انجام شد، نتایج نشان داد تمرین هوازی با شدت متوسط می‌تواند با تعدیل بیان ژن GDF15 همراه باشد (۲۰). در پژوهش لیزارد و همکارانش نیز گزارش شد تمرین مقاومتی با به کارگیری تارهای نوع II $\alpha$  و IIX با تعدیل بیان ژنی SMAD3 از تولید میوستاتین جلوگیری می‌کند (۲۱). بررسی مسیر پیام‌رسانی SMAD3/GDF5 نشان می‌دهد، خانواده GDF5 نیز که میوستاتین یکی از اعضای آن است تحت تأثیر TGF-B، بر اثر فعالیت ورزشی فعال می‌شود تا به هسته برسند و در هسته محصولات نهایی مسیر پیام‌رسانی را رونویسی و پروتئین‌های مربوط به رشد و هایپرتروفی عضله اسکلتی را فعال کنند (۲۲).

با این حال اثر انواع تمرین‌ها بر روی عوامل این مسیر پیام‌رسانی بررسی شده و نتایج ضد و نقیضی وابسته به نوع تمرین گزارش شده است و نیز مطالعات انسانی به‌صورت محدود انجام شده است. در پژوهش تیانو و همکارانش افزایش سطوح بیان ژن SMAD3 را پس از یک دوره سه هفته‌ای انواع تمرین ورزشی

بیان ژن ASPN در گروه تمرین+ booster session در مقایسه با گروه تمرین و نسبت به گروه کنترل تفاوت معنادار داشت ( $p \leq 0.05$ ). در مقایسه بیان ژنی گروه تمرین نسبت به گروه کنترل نیز تفاوت معنادار وجود داشت ( $p \leq 0.05$ ).

بیان ژن GDF5 در گروه تمرین+ booster session در مقایسه با گروه تمرین و نسبت به گروه کنترل تفاوت معنادار وجود داشت ( $p \leq 0.05$ ). در مقایسه بیان ژنی گروه تمرین نسبت به گروه کنترل نیز تفاوت معنادار وجود داشت ( $p \leq 0.05$ ). تغییرات بیان ژنی گروه‌ها در جدول ۲ و نمودار ۱ قابل مشاهده است.

### بحث

پژوهش‌ها نشان می‌دهند بروز درد به‌وسیله سازه‌های ژنتیک و محیط کنترل می‌شود (۸) و با وجود چندشکلی‌های فنوتیپ انسانی و تنوع‌های ژنتیکی متعدد، می‌توان بروز دردهای مزمن اندام پائینی را مخصوصاً در جمعیت‌های آسیب‌پذیر پیش‌بینی کرد. اخیراً تمرین‌های ورزشی پیش‌رونده را برای درمان دردهای مزمن زانو در نیروهای نظامی پیشنهاد شده است اما تا کنون به مساله پیشگیری از بروز درد در این جمعیت پرداخته نشده است (۶، ۱۶).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد در گروه‌هایی که تمرین ورزشی اجرا شد، بیان ژن‌های مربوط به پیشگیری از بروز درد و استئوآرتریت نسبت به گروه کنترل تعدیل یافت. در بیان دو ژن ASPN و GDF5 کاهش بیان ژنی گروهی که برنامه تمرینی همراه با booster session اجرا کرده بود نسبت به گروهی که صرفاً برنامه تمرینی داشت مشاهده شد.

در فرآیند تشکیل غضروف، دو عامل هورمون رشد و فاکتور التهابی TGF $\beta$ 1 این فرآیند را پشتیبانی می‌کنند که هر دوی این دو عامل می‌تواند تحت تأثیر فعالیت ورزشی قرار گیرد. بررسی‌های قبلی نشان می‌دهند که ژن آسپورین می‌تواند با اتصال به TGF $\beta$ 1 مانع از واکنش آن با گیرنده نوع TGF $\beta$ 2 و به این ترتیب مانع از ایجاد سیگنال‌های TGF $\beta$ /SMAD و کندروژن‌های تحریک شده TGF $\beta$ 1 که باعث کندروژنیز می‌گردد، شود (۱۸)؛ بنابراین با توجه به نتیجه پژوهش حاضر در ارتباط با کاهش بیان سطوح ASPN بر روی آلل D14

مطالعاتی که Booster session را در جلسه‌های تمرینی گزارش کرده‌اند نیز بهبود سرعت بازتوانی بیمار و کاهش درد را به‌خصوص در اندام تحتانی نیز گزارش کرده‌اند؛ بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد تمرین‌های پیش‌رونده احتمالاً می‌تواند بیان ژنی پلی‌مورفیسم‌های مرتبط با بروز درد در اندام تحتانی و به‌خصوص مفصل زانو را تعدیل کند. در نتیجه بهتر است از ترکیب تمرین‌های پیش‌رونده با جلسه‌های session booster استفاده شود و در نیروهای نظامی اعم از دانشجویان افسری، نیروهای عملیاتی و حتی ستادی می‌تواند عاملی برای پیشگیری از بروز درد در اندام تحتانی و به‌خصوص در ناحیه زانو باشد.

به عنوان یک پیشنهاد پژوهشی، پیشنهاد می‌شود پس از پژوهش‌های مرتبط با این نوع تمرین‌ها در راندمان عملکرد، بهبود درد در افراد مبتلا به دردهای مفصلی و سایر عوامل، مراکز آموزش نظامی در سطح کشور این تمرین‌ها را جزئی از برنامه تمرینی معمول نیروهایشان قرار دهند. همچنین پیشنهاد می‌شود در ادامه این پژوهش، به بررسی بیان ژنی و سنتز پروتئینی TGFβ1/2 و سایر عوامل مرتبط با مسیر پیام‌رسانی SMAD3/GDF5 پرداخته شود.

از محدودیت‌های پژوهش حاضر، کمبود پژوهش‌های مرتبط و نزدیک به این پژوهش به‌خصوص در نیروهای نظامی بود. از دیگر محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم استفاده از روش وسترن بلات برای اطمینان از سنتز پروتئین ژن‌های مورد پژوهش و عدم سنجش عوامل و فاکتورهای دیگر سلولی و مولکولی در ارتباط با درد بود که علت عدم بررسی، کمبود بودجه پژوهش بوده است.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از دانشجویان دانشگاه افسری امام علی (ع) که در پژوهش حاضر شرکت کردند کمال تشکر و قدردانی بعمل می‌آید. پژوهش حاضر، حاصل پروژه جایگزین خدمت بنیاد ملی نخبگان نویسنده مسئول بوده است که با همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه افسری امام علی (ع) و بخش تربیت بدنی این دانشگاه انجام شده است.

هوایی با شدت متوسط شامل دویدن بر روی تردمیل، شنا و تمرین اختیاری بر روی چرخ دوار بر روی موش گزارش شده است که نتایج حاصل از پژوهش آن‌ها با پژوهش حاضر در افزایش سطوح بیان ژنی SMAD3 نسبت به گروه تمرین همخوانی ندارد (۲۲). در پژوهش ژائو و همکارانش که بر روی یک جمعیت نظامی جوان در کشور چین انجام شد؛ سنجش تغییرات سطوح بیان ژنی GDF5 بر اثر تمرین‌های نظامی با شدت کم (شامل تمرین‌های دویدن، حمل ادوات نظامی و رژه) و نقش تغییرات سطوح ژنی GDF5 در شکستگی اندام تحتانی بررسی شد. نتایج نشان داد سطوح ژن GDF5 در افرادی که تمرین‌های را با شدت کم به‌صورت مداوم انجام دادند سطوح GDF5 کاهش پیدا کرد و درصد شکستگی را در دراز مدت کم کرد. این پژوهش با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد (۲۳). در ارتباط با ژن ASPN و نقش فعالیت ورزشی در تغییرات بیان این ژن هیچ پژوهش داخلی و خارجی گزارش نشده است.

### نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تمرین‌های پیش‌رونده دارای دو ویژگی خاص هستند که این نوع تمرین را متمایز می‌کند نسبت به انواع برنامه‌های تمرینی. گزاره اول این است که در این نوع تمرین معمولاً استرچ یا کشیدگی توام با فعالیت‌های مقاومتی تحمل وزن بدن می‌شود که این امر ویژگی‌های تمرین مقاومتی و تمرین‌های کششی را با هم در خود ادغام می‌کند. همچنین در این نوع تمرین، عضلات ریز که به نوبه خود عضلات مهمی در بروز دردهای شایع عمقی هستند درگیر می‌شوند. گزاره دوم، فعال شدن گیرنده‌های حس عمقی در این نوع از تمرین می‌باشد. این گیرنده‌ها در زمان بی‌تعادلی فعال شده و سبب محافظت از عضله و مفصل از آسیب در زمان عدم بالانس وزن و زاویه مفصل می‌شود.

با توجه به اینکه بیان دو ژن GDF5 و ASPN در گروه‌های تمرین همراه با booster session نسبت به گروه صرفاً با برنامه تمرینی کاهش معناداری داشت، احتمالاً بتوان شدت برنامه تمرینی در تغییرات بیان ژن‌های پیش‌بینی کننده بروز درد را موثر دانست. در جلساتی که booster session اجرا شد، با افزایش ست‌های تمرینی به شدت تمرین‌ها افزوده شد.

## References

1. Garland EL. Pain processing in the human nervous system: a selective review of nociceptive and biobehavioral pathways. *Prim Care: Clin Office Pract.* 2012;39(3):561-71.
2. Weishaar MD, McMillian DJ, Moore JH. Identification and management of femoral shaft stress injuries. *J Orthopaed Sports Physic Ther.* 2005;35(10):665-73.
3. Heir T, Glomsaker P. Epidemiology of musculoskeletal injuries among Norwegian conscripts undergoing basic military training. *Scand J MED SCI SPORTS.* 1996;6(3):186-91.
4. Reinking MF. Exercise related leg pain (ERLP): a review of the literature. *North Am J Sports Physic Ther.* 2007;2(3):170.
5. Hauret KG, Jones BH, Bullock SH, Canham-Chervak M, Canada S. Musculoskeletal injuries: description of an under-recognized injury problem among military personnel. *Am J Prev Med.* 2010;38(1):S61-S70.
6. Kaufman KR, Brodine S, Shaffer R. Military training-related injuries: surveillance, research, and prevention. *Am J Prev Med.* 2000;18(3):54-63.
7. Valdes AM, De Wilde G, Doherty SA, Lories RJ, Vaughn FL, Laslett LL, et al. The Ile585Val TRPV1 variant is involved in risk of painful knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011 Sep 1;70(9):1556-61
8. Zorina-Lichtenwalter K, Meloto C, Khoury S, Diatchenko L. Genetic predictors of human chronic pain conditions. *Neuroscience.* 2016;338:36-62.
9. Valdes AM, Doherty S, Muir KR, Zhang W, Maciewicz RA, Wheeler M, et al. Genetic contribution to radiographic severity in osteoarthritis of the knee. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(9):1537-40.
10. Jazayeri R, Qoreishi M, Hoseinzadeh H, Babanejad M, Bakhshi E, Najmabadi H, et al. [Investigation of the asporin gene polymorphism as a risk factor for knee osteoarthritis in Iran]. *Am J Orthop.* 2013;42(7):313-6. (Persian)
11. Jazayeri M, Qoreishi M, Hoseinzadeh S, Reza H, Babanejad M, Jazayeri M, et al. [Investigation of the Asporin Gene Polymorphism as a Risk Factor for Knee Osteoarthritis in Iran]. *Iran J Orthopaed Surg.* 2015;13(1):30-5(Persian).
12. Zhang S, Wang J, Ji H, Jia H, Guan D. Interaction between GDF5 gene polymorphisms and environment factors increased the risk of knee osteoarthritis: a case-control study. *Biosci Rep.* 2019;39(2).
13. Kiapour AM, Cao J, Young M, Capellini TD. The Role of Gdf5 Regulatory Regions on Development of Hip Morphology and Susceptibility to Osteoarthritis and Dislocation. *BioRxiv.* 2018:389684.
14. Salari A, Yazdi NK, Fathi M. [A comparison of the lower limb joint angles during the step parade return and flexibility in soldiers with and without Shin Splints]. *Razi J Med Sci.* 2018;25(169). (Persian)
15. Majlesi M, Sepehrifar S, Motashakker AM. [A review of the role of exercise and physical fitness in the health and capability of military forces]. *Razi J Med Sci.* 2016;28 (Persian)
16. Mayer JM, Childs JD, Neilson BD, Chen H, Koppenhaver SL, Quillen WS. Effect of lumbar progressive resistance exercise on lumbar muscular strength and core muscular endurance in soldiers. *Mil Med.* 2016 Nov 1;181(11-12):e1615-22.
17. de Andrade Gomes MZ, Pinfildi CE. Prevalence of musculoskeletal injuries and a proposal for neuromuscular training to prevent lower limb injuries in Brazilian Army soldiers: an observational study. *Mil Med Res.* 2018;5(1):23.
18. Gao ST, Lv ZT, Sheng WB. The association between rs12901499 polymorphism in SMAD3 gene and risk of osteoarthritis: a meta-analysis. *Ther Clin Risk Manag.* 2018;14:929.
19. Duval E, Bigot N, Hervieu M, Kou I, Leclercq S, Galéra P, et al. Asporin expression is highly regulated in human chondrocytes. *Mol Med.* 2011;17(7):816-23.
20. Zhang H, Fealy CE, Kirwan JP. Exercise training promotes a GDF15-associated reduction in fat mass in older adults with obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2019 May 1;316(5):E829-36.
21. Lessard SJ, Rivas DA, Alves-Wagner AB, Hirshman MF, Gallagher IJ, Constantin-Teodosiu D, et al. Resistance to aerobic exercise training causes metabolic dysfunction and reveals novel exercise-regulated signaling networks. *Diabetes.* 2013;62(8):2717-27.
22. Tiano JP, Springer DA, Rane SG. SMAD3 negatively regulates serum irisin and skeletal muscle FNDC5 and PGC-1 $\alpha$  during exercise. *J Biol Chem.* 2015 Mar 20;290(12):7671-84.
23. Zhao L, Chang Q, Huang T, Huang C. Prospective cohort study of the risk factors for stress fractures in Chinese male infantry recruits. *J Int Med Res.* 2016;44(4):787-95.