پژوهش‌نامهٔ فیزیولوژی ورزشی کاربردی **مقاله پژوهشی**
سال هجدهم/ شماره سی و شش/پاییز و زمستان ۱۴۰۱

دریافت: ۱۴۰۲/۸/۱۵ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۷ ص ص: ۷۳-۶۱

تأثیر تمرین هوازی همراه با مصرف رزوراترول بر سطح میوستاتین و IGF-1 عضله دوقلوی موش‌های صحرایی بعد از آسیب طناب نخاعی

اسکندر گرمه‌ای[۱]، علی یعقوبی[۲]، نجمه رضائیان[۳]

چکیده

اهداف: آسیب طناب نخاعی (SCI) با آتروفی عضلانی همراه است. بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تمرین هوازی همراه با مکمل گیری رزوراترول بر سطح میوستاتین و فاکتور رشد شبه انسولینی-۱ (IGF-1) در عضله دوقلو موش‌های صحرایی بعد از آسیب نخاعی بود.

روش مطالعه: تعداد ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار با سن هشت هفته در ۴ گروه شامل کنترل، رزوراترول، تمرین و رزوراترول+تمرین قرار داده شدند. آسیب نخاعی با انداختن وزنه ده گرمی از ارتفاع ۲۵ میلی متری بر روی نخاع در قطعه T10 ایجاد گردید. مکمل رزوراترول با دوز ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت درون صفاقی و روزانه تزریق شد. تمرین هوازی به کمک سیستم حمایت وزن، به مدت ۴ هفته، هر جلسه ۵۸ دقیقه و با شدت ۲۰ متر در دقیقه انجام شد. سطح میوستاتین و IGF-1 عضله دوقلو به روش الایزا اندازه‌گیری شد. نتایج با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی تحلیل شد.

یافته‌ها: سطح میوستاتین عضله دوقلو در گروه های تمرین و رزوراترول نسبت به گروه کنترل تفاوت را نشان نداد، اما سطح میوستاتین عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI در گروه تمرین هوازی+رزوراترول نسبت به گروه کنترل به طور معناداری پایین‌تر بود (P=۰/۰۴۵). سطح IGF-1 عضله دوقلو در گروه های تمرین و رزوراترول نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری را نشان نداد، اما سطح IGF-1 عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI در گروه تمرین هوازی+رزوراترول نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بالاتر بود (P=۰/۰۲۱)

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد تمرین هوازی در صورت همراه شدن با مکمل‌گیری رزوراترول می‌تواند با تأثیر بر سطح میوستاتین و IGF-1 عضلانی از آتروفی ایجاد شده در اثر آسیب نخاعی در عضلات پایین‌تر از سطح آسیب، جلوگیری نماید.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، رزوراترول، میوستاتین، فاکتور رشد شبه انسولینی- ۱، آسیب نخاعی

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

[۲] استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران نویسنده مسئول: yaghoubiali65@gmail.com

[۳] استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

مقدمه

آسیب طناب نخاعی[1] (SCI) به عنوان آسیب به طناب نخاعی تعریف می‌شود که به طور موقت یا دائم باعث تغییرات در عملکرد آن می‌شود. SCI به علل ضربه‌ای و یا غیر ضربه‌ای تقسیم می‌شود. ضایعات نخاعی زمانی اتفاق می‌افتد که یک ضربه فیزیکی خارجی (به عنوان مثال، ضربه وسیله نقلیه موتوری، افتادن، آسیب‌های ورزشی یا خشونت) به طناب نخاعی آسیب می‌رساند، در حالی که SCI غیر ضربه‌ای زمانی رخ می‌دهد که یک فرآیند بیماری حاد یا مزمن مانند تومور رخ دهد. عفونت یا بیماری تحلیل دیسک، آسیب اولیه را ایجاد می‌کند (Ahuja et al., 2017). بر اساس شواهد تنها در ایالات متحده، بیش از ۱ میلیون بیمار با SCI زندگی می‌کنند و بیش از ۱۲۰۰۰ مورد جدید هر سال اتفاق می‌افتد. در زمینه نظامی، SCIs تقریباً ۱۱٪ از دلیل مرگ و میرهای سربازان را تشکیل می‌دهند (Schoenfeld et al., 2013).

SCI منجر به از دست دادن تنظیم مرکزی اعصاب محیطی در پایین تر از بخش آسیب دیده و در نتیجه اختلال حسی، حرکتی و اتونومیک، فلج عضلانی و کاهش بار عضلانی می‌شود (Gorgey & Dudley, 2007; Graham et al., 2016). آسیب به سیستم عصبی عضلانی و کاهش یکپارچگی سیستم عضلانی اسکلتی از ویژگی‌های مهم SCI می‌باشد (Otzel et al., 2018)؛ این آسیب مانع مهمی برای بازیابی عملکرد حرکتی است. به عنوان جزء اصلی ترکیب بدن، عضلات اسکلتی حدود ۴۰ درصد وزن بدن را تشکیل می‌دهند (Yin et al., 2021). عضله اسکلتی علاوه بر حفظ هموستاز فعالیت ورزش، تعدادی از عملکردهای فیزیولوژیکی مانند حمایت، حفاظت و تنفس را نیز ایفا می‌کند (Abrigo et al., 2019). آتروفی عضله اسکلتی به صورت از دست دادن توده عضلانی و قدرت ظاهر می‌شود (Yin et al., 2021)، با ۱۸ تا ۴۶ درصد کاهش در سطح مقطع[2] عضله اسکلتی نمایان می‌شود (Otzel et al., 2018). تغییر در آبشارهای سیگنال‌دهی مولکولی که اندازه عضله را تنظیم می‌کنند، پس از SCI مشخص شده است. نشان داده شده است که سرعت از دست دادن عضله در این شرایط سریعتر از بی‌حرکتی و یا برش عصب سیاتیک می‌باشد (Ye et al., 2013).

میوستاتین یکی از اعضای خانواده بزرگ فاکتور مبدل رشد بتا[3] (TGFβ) است که رشد عضله را مهار می‌کند. به‌طوری‌که تنظیم افزایش ژن مسئول بیان میوستاتین با آتروفی عضله اسکلتی ارتباط دارد و مسدود نمودن در ژن میوستاتین سبب افزایش حجم عضلانی می‌شود (Lee, 2007). میوستاتین فسفوریلاسیون سیگنال‌های Akt را از طریق فاکتورهای رونویسی FOXO کاهش می‌دهد و با افزایش بیان ژن‌های مربوط به آتروفی (آتروژن ها[4]) باعث ایجاد آتروفی می‌شود (Rodriguez et al., 2014). برخلاف میوستاتین، فاکتور رشد شبه انسولینی-۱[5] (IGF-1) یکی از مهم‌ترین عوامل محرک رشد عضله در پاسخ به محرک‌های مکانیکی است که یا به‌عنوان یک واسطه درون‌سلولی توسط هورمون رشد تنظیم می‌شود و یا مستقل از هورمون رشد عمل می‌کند (Mohan & Baylink, 2002). در فرضیه مدل "شتاب دهنده-ترمز[6]"، IGF-1 محرک اولیه رشد عضله را فراهم می‌کند و میوستاتین متعاقبا برای جلوگیری از رشد بیش از حد عضله افزایش می‌یابد (Chien et al., 2013; Han et

[1] Spinal Cord Injury
[2] Cross-Sectional Area
[3] Transforming Growth Factor-β
[4] Atrogenes
[5] Insulin-Like Growth Factor 1
[6] Accelerator-Brake

al., 2011; Shyu et al., 2005). در حال حاضر، مطالعات محدودی وجود دارد که تغییرات مایوکاین‌ها را پس از تمرینات ورزشی مزمن در بیماران مبتلا به SCI بررسی می‌کند. تنها در یک تحقیق هان و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر ۳۶ جلسه تمرین هوازی را بر شاخص‌های همودینامیک و مایوکاین‌های سرمی (میوستاتین، IGF-1 و فولیستاتین) در آزمودنی‌های مبتلا به SCI مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها افزایش سطح میوستاتین را در اثر تمرین هوازی در این آزمودنی‌ها را نشان داد (Han et al., 2016).

تمرین ورزشی و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به عنوان روش درمانی جایگزین برای برخی آسیب‌های عصبی از جمله SCI استفاده می‌شود (Coyoy-Salgado et al., 2019). رزوراترول یکی پلی‌فنول است که به طور طبیعی در پوست بسیاری از گیاهان خوراکی و حتی در پاسخ به عفونت‌های قارچی تولید می‌شود (Coyoy-Salgado et al., 2019). عنوان شده است که مکمل‌گیری رزوراترول فواید قابل توجهی برای سلامتی انسان، مانند اثرات ضد سرطانی، ضد میکروبی، ضد پیری، آنتی اکسیدانی، ضد دیابتی و ضد التهابی دارد. علی‌رغم برخی یافته‌های منفی در مورد عملکردهای محافظتی قلبی رزوراترول (Sahebkar et al., 2015)؛ برخی مطالعات نشان داده‌اند که رزوراترول، همراه با تمرینات ورزشی استقامتی، می‌تواند حداکثر VO_2max و همچنین مقاومت در برابر خستگی را بهبود بخشد (Hart et al., 2013). با این حال، در برخی از مطالعات تجربی نشان داده شد که رزوراترول سنتز پروتئین عضلانی را تقویت می‌کند (Montesano et al., 2013)، تخریب پروتئین عضلانی را کاهش می‌دهد و آتروفی فیبرهای عضلانی اسکلتی را کاهش می‌دهد (Alamdari et al., 2012). علاوه بر این، تمرین ورزشی به عنوان مهم‌ترین وسیله قابل سنجش برای بهبود عملکرد تبدیل شده است (Sandrow-Feinberg et al., 2009) و مکانیزم آن توسط پزشکان بالینی و پژوهشگران پایه مورد مطالعه قرار گرفته است. تمرینات ورزشی به طور بالقوه اهدافی را در هر سه حوزه عملکردها/ساختارهای بدن، فعالیت‌ها و مشارکت دنبال می‌کنند (Gómara-Toldrà et al., 2014). تمرینات ورزشی در موارد مختلف از جمله قدرت عضلانی، آمادگی قلبی عروقی، تحرک مفاصل، انبساط عضلانی، تحلیل استخوان، درد و اسپاستیسیته درگیر می‌باشد و ممکن است توانایی انجام فعالیت‌ها را بدون کمک مراقب یا انجام وظایف با استفاده از روش‌های جبرانی با یا بدون تجهیزات بهبود بخشد (Harvey et al., 2009).

به دلیل آسیب شناسی فیزیکی پیچیده SCI یعنی آسیب اولیه و به دنبال آن گسترش آسیب به شکل ثانویه، در حال حاضر درمان قطعی برای ترمیم آسیب نخاعی شناسایی نشده است و از آن جا که مرحله ثانویه SCI کاهش عملکرد و آتروفی عضلانی و بافتی چشمگیری همراه است (Samarghandian et al., 2020)، یکی مهم‌ترین اهداف درمانی SCI، کند کردن پیشرفت بیماری و سپس مهار آسیب ثانویه و بهبود عملکرد بیماران است. با توجه به اهمیت توده عضلانی در پیشرفت سایر بیماری‌های جانبی و همچنین نقش آن در عملکرد بیماران، به عنوان یک هدف درمانی در این بیماران مورد تاکید قرار گرفته است (Xu et al., 2023). بنابراین هدف از این تحقیق بررسی اثر تمرین هوازی همراه با مکمل‌گیری رزوراترول بر سطح میوستاتین و IGF-1 در عضله دوقلو موش‌های صحرایی مبتلا به آسیب نخاعی می‌باشد.

روش‌شناسی تحقیق

تحقیق حاضر از نوع تجربی می‌باشد که با طرح پس آزمون با یک گروه کنترل و سه گروه تجربی انجام شد. در این تحقیق اطلاعات مورد نظر بر اساس اندازه‌گیری متغیرهای وابسته تحقیق، از طریق پس آزمون جمع آوری شد. بر

این اساس تعداد ۳۶ سر رت نر بالغ نژاد ویستار با سن هشت هفته و با دامنه‌ی وزنی ۱۸۵ تا ۲۰۰ گرم استفاده شد که از آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بجنورد خریداری شده بوند. حیوانات پس از انتقال به محیط تحقیق و آشنایی یک هفته‌ای با محیط جدید و آشنایی با فعالیت روی نوارگردان، ابتدا بر اساس وزن گروه بندی شده و قفسه‌ها به صورت تصادفی نام‌گذاری گردیدند. پس از ایجاد جراحی و ایجاد آسیب نخاعی در ۴ گروه شامل ۱- کنترل، ۲- رزوراترول، ۳- تمرین و ۴- رزوراترول+تمرین. قرار داده شدند. پس از رسیدن وزن موش ها به ۲۲۵ گرم، حیوانات با استفاده از مخلوط کتامین/ زایلازین بیهوش شدند، سپس موهای پشت آن به آرامی تراشیده شد و محل مورد نظر ضدعفونی گردید. یک برش در خط وسط و روی برجستگی‌های مهره‌ای ایجاد شد، سپس عضلات و لامینای مهره T9 بدون آسیب رساندن به سخت شامه برداشته شد، در ادامه SCI با انداختن وزنه ده گرمی از ارتفاع ۲۵ میلی متری بر روی نخاع در قطعه T10 ایجاد گردید (Byrnes et al., 2010).

مقیاس باسو-بتی-برسنان[1] (BBB) برای ارزیابی عملکرد عصبی مورد استفاده قرار گرفت. مقیاس BBB یک مقیاس ۲۱ امتیازی است که در آن امتیاز ۱ نشان دهنده عدم حرکت اندام عقبی تا امتیاز ۲۱ که نشان دهنده عملکرد طبیعی اندام عقبی است، امتیاز بندی می شود. امتیاز دهی این مقیاس بر جنبه‌های عملکردی اندام عقبی مانند حمایت از وزن، توانایی قدم زدن، هماهنگی و فاصله انگشتان پا نظارت دارد (Basso et al., 1996; Byrnes et al., 2010). امتیاز دهی به موش های SCI توسط متخصص بی طرف انجام شد.

مکمل رزوراترول (تهیه شده از شرکت سیگما) در اتانول ۵۰ درصد حل شد. سپس مقدار کمی به صورت روزانه در محلولی متشکل از ۰/۹ درصد نمک حاوی ۲۰ درصد هیدروکسی پروپیل h-cyclodextrin (شرکت سیگما) حل شد. این محلول با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت درون صفاقی و روزانه تزریق شد. به موش های سایر گروه ها به مقدر مشابه سالین تزریق شد (Girbovan et al., 2016).

گروه‌های تمرینی پروتکل تمرینی را از طریق تردمیل به کمک سیستم حمایت وزن بدن دنبال کردند. قبل از SCI، همه موش‌ها دو جلسه نیم ساعته در معرض محیط تردمیل قرار گرفتند. برای پیش‌گیری از آبشارهای آسیب ثانویه، برنامه تمرینی در ۱۴ روز پس از آسیب و انجام آزمون BBB، آغاز شد. گروه های تمرینی ابتدا با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه روی تردمیل با جلیقه حمایتی تحت تمرین قرار گرفتند. در طول ۷ روز تمرینی که قبلاً در مطالعات توضیح داده شده است، زمان جلسه به تدریج از ۲۰ دقیقه به هدف ۵۸ دقیقه و شدت تمرین به ۲۰ متر در دقیقه افزایش یافت (Alvarez-Mejia et al., 2015).

رَت ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ناشتایی شبانه بی‌هوش شدند. بی‌هوشی با استفاده از تزریق درون صفاقی ترکیبی از داروی کتامین (۶۰ تا ۸۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (هشت میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) انجام شد. عضله دوقلو پای راست تمامی موش‌های صحرایی برداشته شد و پس از برداشتن و پاکسازی از خون به درون کرایوتیوب‌های کدگذاری شده منتقل و سپس با استفاده از ازت مایع منجمد شده و در ادامه در یخچال ۷۰- درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

برای اندازه گیری میوستاتین از کیت الایزا شرکت R&D کشور آمریکا، به شماره کاتالوگ DGDF80 استفاده گردید. برای اندازه گیری IGF-1 از کیت الایزا شرکت دئوست۲، به شماره کاتالوگ DY791 استفاده گردید مراحل انجام کار بر اساس شرکت سازنده انجام شد.

[1] Basso-Beattie-Bresnahan
[2] DuoSet

پس از جمع‌آوری داده‌های خام، به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو–ویلک و برای بررسی فرض برابری واریانس‌ها، از آزمون لون استفاده شد. پس از مشخص شدن طبیعی بودن توزیع داده‌ها و برقراری فرض برابری واریانس‌ها، به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه‌ی بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS23 در سطح معناداری P< ۰/۰۵ صورت گرفت. جهت رسم نمودارها از نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ استفاده گردید.

یافته ها

در این بخش اطلاعات توصیفی مربوط به مقیاس BBB موش‌ها در ابتدا و پس از ۴ هفته تمرین هوازی و مصرف رزوراترول ارائه شده است. در جدول ۱ نتایج مربوط به آزمون BBB موش‌های مبتلا به آسیب نخاعی قبل و بعد از تمرین هوازی و مصرف مکمل رزوراترول را نشان می‌دهد.

جدول۱- نتایج آزمون BBB در پیش آزمون و پس آزمون گروه‌های تحقیق

شاخص	مرحله	کنترل	رزوراترول	تمرین	تمرین+رزوراترول
BBB	پیش آزمون	۱۲/۱±۲۵/۷۱	۱۱/۲±۵۱/۳۸	۱۱/۲±۶۱/۴۱	۱۲/۱±۵/۹۱
	پس آزمون	۱۲/۱±۵۱/۲۹	۱۱/۱±۷۵/۹۸	۱۵/۱±۷۹/۸۳*&	۱۶/۲±۲۵/۷۵*&#

*تفاوت معنادار نسبت به پیش آزمون، &تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل، #تفاوت معنادار نسبت به گروه رزوراتول. P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنادار در نظر گرفته شده است.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که بین مقیاس BBB در پیش آزمون تفاوت معناداری وجود ندارد (P=۰/۸). اما بین نتایج حاصل از آزمون BBB بعد از پروتکل تمرین هوازی و مصرف رزوراترول بین گروه‌ها تفاوت معناداری مشاهده شد (P=۰/۰۰۱). سطح این شاخص در گروه تمرین و تمرین+رزوراترول نسبت به پیش آزمون و گروه‌های کنترل و رزوراترول به طور معناداری بالاتر بود (P<۰/۰۵).

به منظور مقایسه سطوح میوستاتین و IGF-1 عضله دوقلو موش های مبتلا به SCI در گروه‌های تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. در جدول ۲ یافته‌های آزمون آنالیز واریانس یک طرفه در خصوص مقایسه اثر تمرین هوازی و مصرف رزوراترول بر سطوح میوستاتین و IGF-1 عضله دوقلو موش های مبتلا به SCI در گروه های تحقیق ارائه شده است.

سطح میوستاتین عضله دوقلو گروه‌های تحقیق: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین سطح میوستاتین عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI، پس از ۴ هفته تمرین هوازی و مصرف رزوراترول، تفاوت معنی‌داری وجود دارد (F=۴/۳۵۴ و p=۰/۰۲۵). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که با وجود کاهش سطح میوستاتین عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI در گروه‌های تمرین هوازی و مصرف رزوراترول نسبت به گروه کنترل ولی این کاهش از نظر آماری معنادار نبود (مقادیر P به ترتیب ۰/۰۶ و ۰/۸)، اما سطح میوستاتین عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI در گروه تمرین + رزوراترول نسبت به گروه کنترل به طور معناداری پایین‌تر بود (P=۰/۰۴۵). سطح IGF-1 عضله دوقلو گروه‌های تحقیق: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین سطح IGF-1 عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI، پس از ۴ هفته تمرین هوازی و مصرف رزوراترول، تفاوت معنی‌داری وجود

دارد (F=۴/۵۵ و P=۰/۰۲۲). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که با وجود افزایش سطح IGF-1 عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI در گروه‌های تمرین هوازی و مصرف رزوراترول نسبت به گروه کنترل ولی این افزایش از نظر آماری معنادار نبود (مقادیر P به ترتیب ۰/۰۹ و ۰/۷)، اما سطح IGF-1 عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI در گروه تمرین هوازی همراه با مصرف رزوراترول نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بالاتر بود (P=۰/۰۲۱).

جدول ۲. مقایسه سطوح میوستاتین و IGF-1 در گروه های تحقیق

شاخص	کنترل	رزوراترول	تمرین	تمرین+رزوراترول
میوستاتین (pg/mg)	۱۴۰/۳۳±۷۵/۶۹	۱۲۴/۲۵±۸۵/۷۹	۸۸/۳۷±۱۴/۳۱	۸۱/۳۴±۴۲/۱۹&
IGF-1 (pg/mg)	۱۰۹/۲۵±۱۵/۰۷	۱۳۵/۲۷±۲/۵۶	۱۶۷/۲۴±۴۶/۳۲	۱۹۱/۵۳±۳۵/۴۵&

& تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل. P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنادار در نظر گرفته شده است.

بحث و بررسی

تحقیق حاضر نشان داد که تمرین هوازی و مصرف رزوراترول به تنهایی، تأثیری بر سطح میوستاتین و IGF-1 عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI ندارند ولی تمرین هوازی همراه با مصرف رزوراترول با کاهش معنادار سطح میوستاتین و افزایش سطح IGF-1 را در پی دارد. در بیمارانی که از SCI رنج می‌برند، ویژگی اصلی بافت عضلانی پایین‌تر از سطح آسیب، آتروفی فیبرهای عضلانی است، همراه با تغییر نوع فیبرعضلانی آن‌ها، که منجر به کاهش فیبرهای کند انقباض (نوع I) و افزایش فیبر تند انقباض (نوع IIA و IIX) می‌شود (Talmadge et al., 2002). نتایج مطالعه موهر[1] و همکاران نشان داد که تبدیل زنجیره سنگین میوزین چهار سر ران به IIA در بیماران SCI تقریباً در طی ۳ سال کامل می‌شود؛ این تغییرات، و به ویژه آتروفی شدید عضلانی در SCI مزمن، سهم عمده‌ای در عوامل خطر بیماری‌های همراه مانند دیابت، چاقی، اختلالات چربی و بیماری‌های قلبی عروقی دارند (Mohr et al., 1997).

میوستاتین عضوی از خانواده فاکتور رشد تبدیل شونده (TGF) است که عمدتاً در سلول‌های ماهواره‌ای بیان می‌شود و یک مهار کننده قوی عوامل تنظیم کننده رشد و تمایز عضلات در داخل بدن و در شرایط آزمایشگاهی است (Marimuthu et al., 2011). همچنین IGF-1 یک پروتئین کنترل کننده رشد است که بر توسعه سیستم‌های متعدد تأثیر می‌گذارد که سیستم اسکلتی- عضلانی یکی از مهمترین آن‌ها است (Schiaffino et al., 2021). نتایج اینورنیزی[2] و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که در بیماران SCI، مستقل از سطح آسیب و کامل بودن ضایعه، سطح سرمی میوستاتین به طور قابل‌توجهی بالاتر از افراد سالم است که این می‌تواند تا حدی تغییرات شدید عضلانی پاتولوژیک مشاهده شده در این بیماران را توضیح دهد (Invernizzi et al., 2015). همچنین مطالعه آزمایشگاهی نشان داده است که کمبود میوستاتین منجر به تبدیل نوع فیبر عضلانی به متابولیسم بی هوازی می‌شود (Baligand et al., 2010). در داخل بدن، تحمل ورزش و مصرف اکسیژن نیز در موش‌های دارای کمبود میوستاتین کاهش می‌یابد (Mouisel et al., 2014). بررسی ادبیات مربوط به سازگاری‌های میوستاتین سرم پس از تمرین ورزشی در انسان محدود است و عمدتاً بر تمرین مقاومتی متمرکز است (Paoli et al.,

[1] Mohr
[2] Invernizzi

2015). هان و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر ۳۶ جلسه تمرین هوازی را بر شاخص‌های همودینامیک و مایوکاین‌های سرمی (میوستاتین، IGF-1 و فولیستاتین) در آزمودنی‌های مبتلا به SCI مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که تمرین هوازی باعث افزایش IGF-1 در آزمودنی‌های سالم شد ولی تأثیری بر IGF-1 بیماران مبتلا به SCI نداشت. نتایج آن‌ها افزایش سطح میوستاتین را در اثر تمرین هوازی در این آزمودنی‌ها را نشان داد (Han et al., 2016). همچنین آستورینو[1] و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی به بررسی تأثیر تمرینات حرکات درمانی بر ترکیب بدنی و عوامل مؤثر بر رشد عضلانی در بیماران مبتلا به SCI را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که تمرینات حرکات درمانی تأثیری بر سطح میوستاتین و IGF-1 آزمودنی‌های مبتلا به SCI نداشت. آن‌ها اشاره کردند که این تمرینات که بر اندام تحتانی تمرکز داشت تأثیری مفیدی بر سطح میوستاتین و IGF-1 و در نتیجه آتروفی عضلانی نداشت (Astorino et al., 2015).

همانطور که عنوان شد "شتاب دهنده–ترمز" برای توضیح پاسخ‌های مولکولی تنظیم کننده هیپرتروفی عضلانی مورد استفاده قرار گرفته است، در این مدل میوستاتین و IGF-1 به عنوان مولکول‌های تنظیم کننده برای هیپرتروفی عضلانی عمل می‌کنند (Chien et al., 2013; Han et al., 2011; Shyu et al., 2005). بنابراین، بیان میوستاتین از نظر تئوری افزایش می‌یابد تا سیگنال‌های رشد بافت عضلانی مانند ورزش یا فاکتورهای رشد را محدود کند (Han et al., 2016). اما نتایج تحقیق حاضر با این مدل همخوانی نداشت. در حالی که به نظر می‌رسد تمرینات مقاومتی یک اثر تقویت کننده بر سطح IGF-1 دارد ولی اشاره شده است که تمرینات استقامتی به طور معمول کل IGF-I را کاهش می‌دهد (Astorino et al., 2015). همراستا با نتایج تحقیق حاضر تحقیق هان و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان داد که تمرین ورزشی هوازی تأثیری بر سطح شاخص‌های این مدل در بیماران مبتلا به SCI نداشت (Han et al., 2016).

نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که مصرف رزوراترول به تنهایی تأثیری بر سطح میوستاتین و IGF-1 عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI ندارد ولی ترکیب تمرین هوازی و رزوراترول کاهش میوستاتین و افزایش IGF-1 عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI را در پی داشت. رزوراترول یک پلی فنول طبیعی است که از چندین گیاه مانند انگور، بادام زمینی و شراب قرمز استخراج می‌شود و اثرات مفید بسیاری بر اندام‌های مختلف بدن از جمله عضلات دارد. پتانسیل آنتی اکسیدانی بالا، خواص ضد آپوپتوتیک و ضد پیری آن باعث شده است که این ترکیب محبوبیت زیادی داشته باشد (Jackson et al., 2010). همچنین معمولاً به عنوان یک ماده غذایی در هر دو مدل انسانی و حیوانی استفاده شده است (Chaplin et al., 2018). در این زمینه اشاره شده است که رزوراترول نیز احتمالاً از طریق پیشگیری از فرآیندهایی مانند عدم تعادل ردوکس، التهاب، چاقی، دیابت و تصلب شرایین، طول عمر را افزایش داد (Jiang et al., 2019; Mañas-García et al., 2021). در عضلات اسکلتی، رزوراترول برای کاهش آسیب عضله دوقلو در موش‌ها نشان داده شد (Feng et al., 2019)، در تحقیق دیگری توسط ماناس–گارسیا[2] و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که رزوراترول با تأثیر بر سلول‌های ماهواره‌ای شاخص‌های بازسازی عضلات را در در موش‌های در معرض بی وزنی و جاذبه، تقویت شد (Mañas-García, et al., 2020). در موش‌ها، درمان با رزوراترول همچنین باعث کاهش تحلیل عضلانی، در حین تخلیه مکانیکی در یک نوع عضله کند انقباض، عضله نعلی شد (Momken et al., 2011). علاوه بر این، رزوراترول همچنین ممکن

[1] Astorino
[2] Mañas-García

است اثرات آنتی اکسیدانی داشته باشد که تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از ورزش را تغییر می‌دهد (Krause et al., 2008). ماناس–گارسیا و همکاران (۲۰۲۱) در تحقیق دیگری نشان دادند که درمان با رزوراترول در موش‌هایی که در معرض یک دوره هفت روزه بی وزنی قرار گرفتند، از کاهش وزن بدن و عضله و کاهش قدرت اندام جلوگیری کرد، در حالی که بهبودی در پروتئولیز عضلانی، نشانگرهای پروتئولیتیک، مسیرهای سیگنال دهی آتروفی، آپوپتوز و فیبر عضلانی، سطح مقطع عضله در عضله دوقلو مشاهده شد. آن‌ها اشاره کردند که این یافته ها ممکن است پیامدهای درمانی بالقوه ای در مدیریت آتروفی عضلانی بلااستفاده در محیط های بالینی داشته باشد (Mañas-García et al., 2021). همچنین در تحقیق دیگری نشان داده شد که توده و عملکرد عضلانی نیز در بیماران مسن در پاسخ به تمرینات ورزشی ترکیبی هوازی و درمان رزوراترول به طور قابل توجهی بهبود یافت (Krakoff et al., 2003). با وجود این‌که در تحقیق حاضر توده عضلانی مورد ارزیابی قرار نگرفت ولی کاهش سطح میوستاتین و همچنین افزایش IGF-1 عضله دوقلو که همراستا با بهبود عملکرد نتیجه آزمون BBB بود را می‌توان همراستا با نتایج تحقیق فوق تحلیل نمود.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده عدم تأثیر تمرین ورزشی و مصرف رزوراترول به تنهایی بر سطح میوستاتین و IGF-1 در بافت عضلانی موش‌های مبتلا به SCI می‌باشد ولی همراه کردن تمرین هوازی با رزوراترول اثرات مثبتی بر این شاخص‌ها داشت. بنابراین تمرین هوازی همراه با مکمل گیری رزوراترول می‌تواند با تأثیر بر سطح میوستاتین و IGF-1 عضلانی از آتروفی ایجاد شده در اثر آسیب نخاعی در عضلات پایین‌تر از سطح آسیب، جلوگیری نماید.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

منابع

Abrigo, J., Simon, F., Cabrera, D., Vilos, C., & Cabello-Verrugio, C. (2019). Mitochondrial dysfunction in skeletal muscle pathologies. *Current Protein and Peptide Science, 20*(6), 536-546 .

Ahuja, C. S., Wilson, J. R., Nori, S., Kotter, M., Druschel, C ,.Curt, A., & Fehlings, M. G. (2017). Traumatic spinal cord injury. *Nature reviews Disease primers, 3*(1), 1-21 .

Alamdari, N., Aversa, Z., Castillero, E., Gurav, A., Petkova, V., Tizio, S., & Hasselgren, P.-O. (2012). Resveratrol prevents dexamethasone-induced expression of the muscle atrophy-related ubiquitin ligases atrogin-1 and MuRF1 in cultured myotubes through a SIRT1-dependent mechanism. *Biochemical and biophysical research communications, 417*(1), 528-533 .

Alvarez-Mejia, L., Morales, J., Cruz, G. J ,.Olayo, M.-G., Olayo, R., Díaz-Ruíz, A., . . . Morales-Guadarrama, A. (2015). Functional recovery in spinal cord injured rats using polypyrrole/iodine implants and treadmill training. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 26*, 1-11 .

Astorino, T. A., Harness, E. T., & Witzke, K. A. (2015). Chronic activity-based therapy does not improve body composition, insulin-like growth factor-I,

adiponectin, or myostatin in persons with spinal cord injury. *The journal of spinal cord medicine, 38*(5), 615-625.

Baligand, C., Gilson, H., Menard, J., Schakman, O., Wary, C., Thissen, J.-P., & Carlier, P. (2010). Functional assessment of skeletal muscle in intact mice lacking myostatin by concurrent NMR imaging and spectroscopy. *Gene therapy, 17*(3), 328-337 .

Basso, D., Beattie, M., Bresnahan, J., Anderson, D., Faden, A., Gruner, J., Nockels, R. (1996). MASCIS evaluation of open field locomotor scores: effects of experience and teamwork on reliability. *Journal of Neurotrauma, 13*(7), 343-359 .

Byrnes, K .R., Fricke, S. T., & Faden, A. I. (2010). Neuropathological differences between rats and mice after spinal cord injury. *Journal of Magnetic Resonance Imaging, 32*(4), 836-846 .

Chaplin, A., Carpéné, C., & Mercader, J. (2018). Resveratrol, metabolic syndrome, and gut microbiota. *Nutrients, 10*(11), 1651 .

Chien, Y.-H., Han, D.-S., Hwu, W.-L., Thurberg, B. L., & Yang, W.-S. (2013). Myostatin and insulin-like growth factor I: potential therapeutic biomarkers for pompe disease. *PloS one, 8*(8), e71900 .

Coyoy-Salgado, A., Segura-Uribe, J. J., Guerra-Araiza, C., Orozco-Suárez, S., Salgado-Ceballos, H., Feria-Romero, I. A., Orozco-Barrios, C. E. (2019). The importance of natural antioxidants in the treatment of spinal cord injury in animal models: an overview. *Oxidative medicine and cellular longevity, 2019*: 12;2019:3642491.

Feng, Y., He, Z., Mao, C., Shui, X., & Cai, L. (2019). Therapeutic effects of resveratrol liposome on muscle injury in rats. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, 2*:25:2377-2385.

Girbovan, C., Kent, P., Merali, Z., & Plamondon, H. (2016). Dose-related effects of chronic resveratrol administration on neurogenesis, angiogenesis, and corticosterone secretion are associated with improved spatial memory retention following global cerebral ischemia. *Nutritional Neuroscience, 19*(8), 352-368 .

Gómara-Toldrà, N., Sliwinski, M., & Dijkers, M. P. (2014). Physical therapy after spinal cord injury: a systematic review of treatments focused on participation. *The journal of spinal cord medicine, 37*(4), 371-379 .

Gorgey, A., & Dudley, G. (2007). Skeletal muscle atrophy and increased intramuscular fat after incomplete spinal cord injury. *Spinal Cord, 45*(4), 304-309 .

Graham, Z. A., Collier, L., Peng, Y., Saéz, J. C ,.Bauman, W. A., Qin, W., & Cardozo, C. P. (2016). A soluble activin receptor IIB fails to prevent muscle atrophy in a mouse model of spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma, 33*(12), 1128-1135 .

Han, D.-S., Hsiao, M.-Y., Wang, T.-G., Chen, S.-Y., & Yang ,W.-S. (2016). Association of serum myokines and aerobic exercise training in patients with spinal cord injury: an observational study. *BMC neurology, 16*, 1-7 .

Han, D. S., Chen, Y. M., Lin, S. Y., Chang, H. H., Huang, T. M., Chi, Y. C., & Yang, W. S. (2011). Serum myostatin levels and grip strength in normal subjects and patients on maintenance haemodialysis. *Clinical endocrinology, 75*(6), 857-863 .

Hart, N., Sarga, L., Csende, Z., Koltai, E., Koch, L. G., Britton, S. L., Radak, Z. (2013). Resveratrol enhances exercise training responses in rats selectively bred for high running performance. *Food and chemical toxicology, 61*, 53-59 .

Harvey, L., Lin, C.-W., Glinsky, J., & De Wolf, A. (2009). The effectiveness of physical interventions for people with spinal cord injuries: a systematic review. *Spinal Cord, 47*(3), 184-195 .

Invernizzi, M., Carda, S., Rizzi, M., Grana, E., Squarzanti, D., Cisari, C., Renò, F. (2015). Evaluation of serum myostatin and sclerostin levels in chronic spinal cord injured patients. *Spinal Cord, 53*(8), 615-620 .

Jackson, J. R., Ryan, M. J., Hao, Y., & Alway, S. E. (2010). Mediation of endogenous antioxidant enzymes and apoptotic signaling by resveratrol following muscle disuse in the gastrocnemius muscles of young and old rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 299*(6), 1572-1581 .

Jiang, Q., Cheng, X., Cui, Y., Xia, Q., Yan, X., Zhang, M., Huang, Y. (2019). Resveratrol regulates skeletal muscle fibers switching through the AdipoR1-AMPK-PGC-1α pathway. *Food & Function, 10*(6), 3334-3343 .

Krakoff, J., Funahashi, T., Stehouwer, C. D., Schalkwijk, C. G., Tanaka, S., Matsuzawa, Y., Knowler, W. C. (2003). Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian. *Diabetes care, 26*(6), 1745-1751 .

Krause, M. P., Liu, Y., Vu, V., Chan, L., Xu, A., Riddell, M. C., Hawke, T. J. (2008). Adiponectin is expressed by skeletal muscle fibers and influences muscle phenotype and function. *American Journal of Physiology-Cell Physiology, 295*(1), 203-212 .

Lee, S.-J. (2007). Quadrupling muscle mass in mice by targeting TGF-ß signaling pathways. *PloS one, 2*(8), e789 .

Mañas-García, L., Denhard, C., Mateu, J., Duran, X., Gea, J., & Barreiro, E. (2021 .(Beneficial Effects of Resveratrol in Mouse Gastrocnemius: A Hint to Muscle Phenotype and Proteolysis. *Cells, 10*(9), 2436 .

Mañas-García, L., Guitart, M., Duran, X., & Barreiro, E. (2020). Satellite cells and markers of muscle regeneration during unloading and reloading: Effects of treatment with resveratrol and curcumin. *Nutrients, 12*(6), 1870 .

Marimuthu, K., Murton, A. J., & Greenhaff, P. L. (2011). Mechanisms regulating muscle mass during disuse atrophy and rehabilitation in humans. *Journal of applied physiology, 110*(2), 555-560 .

Mohan, S., & Baylink, D. (2002). Beyond carrier proteins: IGF-binding proteins are multifunctional and act via IGF-dependent and–independent mechanisms. *J endocrinol, 175*, 19-31 .

Mohr, T., Andersen, J. L., Biering-Sørensen, F., Galbo, H., Bangsbo, J., Wagner, A., & Kjaer, M. (1997). Long term adaptation to electrically induced cycle training in severe spinal cord injured individuals. *Spinal Cord, 35*(1), 1-16 .

Momken, I., Stevens, L., Bergouignan, A., Desplanches, D., Rudwill, F., Chery, I., Sebedio, J. L. (2011). Resveratrol prevents the wasting disorders of mechanical unloading by acting as a physical exercise mimetic in the rat. *The FASEB Journal, 25*(10), 3646-3660 .

Montesano, A., Luzi, L., Senesi, P., Mazzocchi ,N., & Terruzzi, I. (2013). Resveratrol promotes myogenesis and hypertrophy in murine myoblasts. *Journal of translational medicine, 11*(1), 1-15 .

Mouisel, E., Relizani, K., Mille-Hamard, L., Denis, R., Hourdé, C., Agbulut, O., Vignaud, A. (2014). Myostatin is a key mediator between energy metabolism and endurance capacity of skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 307*(4), R444-R454 .

Otzel, D. M., Lee, J., Ye, F., Borst, S. E., & Yarrow, J .F. (2018). Activity-based physical rehabilitation with adjuvant testosterone to promote neuromuscular recovery after spinal cord injury. *International Journal of Molecular Sciences, 19*(6), 1701 .

Paoli, A., Pacelli, Q. F., Neri, M., Toniolo, L., Cancellara, P., Canato, M., Faggian, D. (2015). Protein supplementation increases postexercise plasma myostatin concentration after 8 weeks of resistance training in young physically active subjects. *Journal of medicinal food, 18*(1), 137-143 .

Rodriguez, J ,.Vernus, B., Chelh, I., Cassar-Malek, I., Gabillard, J.-C., Sassi, A. H., Bonnieu, A. (2014). Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. *Cellular and Molecular Life Sciences, 71*(22), 4361-4371 .

Sahebkar, A., Serban, C., Ursoniu, S., Wong, N. D., Muntner, P., Graham, I. M., Sperling, L. S. (2015). Lack of efficacy of resveratrol on C-reactive protein and selected cardiovascular risk factors—Results from a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *International journal of cardiology, 189*, 47-55 .

Samarghandian, S., Pourbagher-Shahri, A. M., Ashrafizadeh, M., Khan, H., Forouzanfar, F., Aramjoo, H., & Farkhondeh, T. (2020). A pivotal role of the nrf2 signaling pathway in spinal cord injury: A prospective therapeutics study. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders), 19*(3), 207-219 .

Sandrow-Feinberg, H. R., Izzi, J., Shumsky, J. S., Zhukareva, V., & Houle, J. D. (2009). Forced exercise as a rehabilitation strategy after unilateral cervical spinal cord contusion injury. *Journal of Neurotrauma, 26*(5), 721-731 .

Schiaffino, S., Reggiani, C., Akimoto, T., & Blaauw, B. (2021). Molecular mechanisms of skeletal muscle hypertrophy .*Journal of neuromuscular diseases*, *8*(2), 169-183 .

Schoenfeld, A. J., Laughlin, M. D., McCriskin, B. J., Bader, J. O., Waterman, B. R., & Belmont Jr, P. J. (2013). Spinal injuries in United States military personnel deployed to Iraq and Afghanistan: an epidemiological investigation involving 7877 combat casualties from 2005 to 2009. *Spine*, *38*(20), 1770-1778 .

Shyu, K.-G., Ko, W.-H., Yang, W.-S., Wang, B.-W., & Kuan, P. (2005). Insulin-like growth factor-1 mediates stretch-induced upregulation of myostatin expression in neonatal rat cardiomyocytes. *Cardiovascular research*, *68*(3), 405-414 .

Talmadge, R., Castro, M., Apple Jr, D., & Dudley, G. (2002). Phenotypic adaptations in human muscle fibers 6 and 24 wk after spinal cord injury. *Journal of applied physiology*, *92*(1), 147-154 .

Xu, X., Talifu, Z., Zhang, C.-J., Gao, F., Ke, H., Pan, Y.-Z., Jing, Y.-L. (2023). Mechanism of skeletal muscle atrophy after spinal cord injury: A narrative review. *Frontiers in Nutrition*, *10* .

Ye, F., Baligand, C., Keener ,J. E., Vohra, R., Lim, W., Ruhella, A., Thompson, F. (2013). Hindlimb muscle morphology and function in a new atrophy model combining spinal cord injury and cast immobilization. *Journal of Neurotrauma*, *30*(3), 227-235 .

Yin, L., Li, N., Jia, W., Wang, N., Liang, M., Yang, X., & Du, G. (2021). Skeletal muscle atrophy: From mechanisms to treatments. *Pharmacological research*, *172*, 105807 .

The effect of aerobic training along with resveratrol consumption on myostatin and IGF-1 levels in gastrocnemius muscle of rats after spinal cord injury

Eskandar Garmei, Ali Yaghoubi*, Najme Rezaeian

Department of Physical Education, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

***Corresponding author**: yaghoubiali65@gmail.com

Abstract

Objectives: Spinal cord injury (SCI) is associated with muscle atrophy. Therefore, the purpose of present study was to investigate the effect of aerobic training with resveratrol consumption on myostatin and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) levels in the gastrocnemius muscles of rats after spinal cord injury.

Methods: thirty-six male Wistar rats aged eight weeks were placed in 4 groups including control, resveratrol, training and resveratrol + training. Spinal cord injury was caused by dropping a ten-gram weight from a height of 25 mm on the spinal cord in the T10 segment. Resveratrol supplement with a dose of 10 mg/kg was injected intraperitoneally and daily. The aerobic training was carried out with the help of the weight support system for 4 weeks, each session was 58 minutes and the intensity was 20 m/min. The level of myostatin and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) levels in the gastrocnemius muscle were measured by ELISA method. To analyze the data, one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used at the significance level of $p<0.05$.

Results: Myostatin level in gastrocnemius muscle of training and resveratrol groups did not show any difference compared to the control group, But Myostatin level in gastrocnemius muscle of training+resveratrol group was significantly lower than control group (p=0/045). IGF-1 level in gastrocnemius muscle of training and resveratrol groups did not show any difference compared to the control group, But IGF-1 level in gastrocnemius muscle of training+resveratrol group was significantly higher than control group (p=0/021).

Conclusion: it seems that aerobic training, when combined with resveratrol supplementation, can prevent atrophy caused by spinal cord injury in muscles below the injury level by affecting the level of muscle myostatin and IGF-1.

Key words: Aerobic Training, Resveratrol, Myostatin, Insulin-Like Growth Factor-1, Spinal Cord Injury.