دریافت:۹۳/۰۶/۲۵ پذیرش:۹۳/۰۸/۲۶ ص ص:۱۳۸-۱۲۹

اثر۸ هفته تمرین مقاومتی بر میزان نوروترپسین در عضلات تند انقباض و کند انقباض موش های سالمند ویستار

حسن قدیمی ایلخانلار[۱]،دکتر مریم نورشاهی[۲]،دکتر رضا قراخانلو[۳]،دکتر فریبا خداقلی[۴]

چکیده

زمینه و هدف: یکی از عوامل مهمی که باعث بروز سارکوپنیا می شود نوروترپسین است. نوروترپسین یک بیومارکر عصبی است که از مغز ،آکسون ها و موتونورون‌ها آزاد شده و باعث تخریب ساختار اتصال عصبی-عضلانی (NMJ) و در نتیجه موجب بروز سارکوپنیا می شود. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیرهشت هفته تمرین مقاومتی بر میزان نوروترپسین عضلات تند انقباض و کند انقباض در موش های صحرایی نژاد ویستار سالمند بود.

مواد و روش ها: بهاینمنظور ۲۰سرموشصحرایی نژاد ویستار سالمند (۲۴ماه) با میانگین وزنی ۳/۵ ± ۴۸۵ پس از یک هفته آشناسازی با شرایط آزمایشگاهی به صورت تصادفی به دو گروه کنترل (n=۱۰) و گروه تمرین مقاومتی(n=۱۰) تقسیم شدند.پروتکل تمرینی گروه تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان با حمل وزنه های ۵۰ ٪ ،۷۵٪ ،۹۰٪ و ۱۰۰درصد وزن کل بدن حیوانات به مدت ۸ هفته و سه جلسه در هفته بود.گروه کنترل در مجاورت گروه تجربی و در آزمایشگاه بدون اجرای هیچ گونه تمرینی نگهداری می شدند.حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین تشریح شدند.در عمل جراحی موش ها ، عضله کند انقباض نعلی و تند انقباض باز کننده طویل انگشتان پا (EDL) استخراج گردید و در نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان آنالیز بافت ها در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. به منظور سنجش تغییرات پروتئین در بافت های عضلانی از روش وسترن بلات و برای تجزیه و تحلیل داده های آماری از آزمون t- مستقل استفاده شد.

یافته ها:تجزیه و تحلیل اطلاعات به دست آمده از تحقیق نشان داد که بین میزان پروتئین نوروترپسین عضلات کند انقباض نعلی و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود دارد(0.05P<)..همچنین یافته نشان داد که تفاوت میزان نوروترپسین گروه کنترل و تمرین در عضله تند انقباض(EDL) معنی دار بود(0.05P<).

بحث و نتیجه گیری: از آنجایی که بالارفتن میزان نوروترپسین باعث تخریب NMJ، تخریب تار های عضلانی و بروز سارکوپنیا می شود،لذا با توجه به نتایج تحقیق حاضر استنباط می شود که احتمالا تمرین مقاومتی محرک مناسبی جهت کاهش میزان نوروترپسین برای جلوگیری از تخریب NMJ و بروز سارکوپنیا باشد.

واژه های کلیدی: سالمندی، سارکوپنیا، نوروترپسین، تمرین مقاومتی، موش های نر ویستار.

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران h.ilkhanlar@yahoo.com
۲. دانشیار،گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه شهید بهشتی، تهران،ایران
۳. دانشیار، گروه فیزیولوی ورزش، دانشگاه تربیت مدرس،تهران،ایران
۴. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران،ایران

مقدمه

سالمندی[1] از دوره های حساس زندگی انسان است که همراه با این رویداد ، روند تدریجی تخریب اعضای بدن تسریع شده و به دنبال آن عملکرد جسمانی افراد با افت شدید مواجهه می شود. از مهمترین تغییراتی که متناسب با افزایش سن و پیری در بدن بوجود می آید، تحلیل و تخریب توده عضلانی وکاهش چشم گیر حجم و اندازه عضله اسکلتی می باشد که به سارکوپنیا [2]معروف است (۱،۲).این بیماری باعث ناتوانی در انجام وظایف روزانه،کاهش کیفیت زندگی افراد سالمند و کاهش امید به زندگی در این افراد می شود(۳). تحقیقات نشان داده اند که در سارکوپنیا اندازه و تعداد هردو نوع تار عضلانی تند انقباض و کند انقباض کاهش می یابند، ولی کاهش تعداد و اندازه تار های تند انقباض در مقایسه با تار های کند انقباض در اثر افزایش سن شدیدتر است (۴). همچنین مطالعات نشان می دهند که در سارکوپنیا انحطاط نورون حرکتی و به دنبال آن قطع عصب حرکتی یکی از علل عمده از دست دادن توده عضلانی است که فیبرهای عضلانی چرخه ای از قطع عصب و عصب گیری مجدد را متحمل می شوند. در طی این چرخه، برخی از میوفیبریل ها به ویژه فیبر های نوع تند انقباض از بین می روند، و فیبرهایی که توسط نورون های حرکتی سریع (نوع الیاف II) عصب دهی می شدند توسط نورون های حرکتی نوع آهسته (نوع I الیاف) مجددا عصب دهی می شوند، این اتفاق منجر به افزایش تارهای کند انقباض و در کل آتروفی عضلانی می شود، که این تغییر در تارها از مشخصه های مهم سارکوپنیا هستند(۴،۵،۶). در سارکوپنیا علاوه بر کاهش تعداد فیبرهای عضلانی و افزایش ناهمگنی اندازه فیبرها ،بسیاری از تغییرات پس سیناپسی از جمله تخریب محل اتصال عصبی – عضلانی (NMJ)[3]، نیز مشاهده شده است(۷) که با تخریب آن انتقال سیگنال های عصبی از مراکز عصبی فوقانی به عضلات در NMJ دچار اختلال شده و به دلیل عدم ارسال سیگنال های عصبی ، عضلات کمتر فعال شده و در نتیجه دچار ضعف و آتروفی می شوند که این نوع تخریب معمولا در تار های تند انقباض بیشتر از تارهای کند انقباض اتفاق می افتد(۵،۸).

یکی از بیومارکرهای عصبی که بالا رفتن آن باعث تخریب NMJ و به دنبال آن بروز سارکوپنیا می شود نوروترپسین[4]است که این مسئله در موش های تراریخته به اثبات رسیده است(۹،۱۰). نوروترپسین یک پروتئاز عصبی و از اعضای خانواده سرین پپتیداز S1A است که عمدتا در مغز، نخاع، موتونورون ها، کلیه و ریه بیان می‌شود(۹،۱۱). نوروترپسین از طریق تخریب گیرنده پروتئینی آگرین[5] و به دنبال آن تخریب NMJ موجب بروز سارکوپنیا می شود(۸،۹).آگرین یکی از پروتئین های بسیار کلیدی در شکل گیری و ثبات NMJ است و این نقش بسیار مهم خود را از طریق مسیر سیگنالی آگرین–Rapsin–LRP–Musk انجام می دهد که علاوه بر شکل گیری،ثبات و بلوغ NMJ موجب خوشه بندی و تراکم گیرنده های استیل کولینی(AchRs) در قسمت پایین دستی مسیر سیگنالی خود می شود(۱۲،۱۶،۱۵،۱۴،۱۳). در مورد مکانیزم عمل نوروترپسین و نحوه ایجاد اثر تخریبی آن باید گفت که اکثر تحقیقات نشان داده اند که افزایش میزان نوروترپسین از طریق شکافتن آگرین باعث تخریب NMJ می‌شود(۹،۱۰،۱۱).در این زمینه بولینگر و همکاران[6] نشان دادند که موش‌های تراریخته با بیان بالای ژن نوروتریپسین تغییرات شدید عصبی و عضلانی، بسیار شبیه به فنوتیپ یافت شده در موش دارای

1. Aging
2. sarcopenia
3. Neuromascular junction(NMJ)
4. Neurotrypsin
5. Agrin
6. Bollinger&etal (2011)

نقص آگرین نشان می دهند. همچنین این محققان اعلام کردند چند روز پس از القای ژن نوروترپسین، بسیاری از NMJs که قبلا در گروه صفحه انتهایی عضله دیافراگم تشکیل شده بودند ناپدید شدند. نقص آگرین و تخریب NMJ ، همراه با بیان همزمان نوروتریپسین و آگرین در نورون های حرکتی بیانگر آن است که آگرین به عنوان یک هدف پروتئولتیک نوروتریپسین است(۱۰). در این رابطه درای و همکاران[1]اثر تمرین توانی و مقاومتی را همراه با مکمل ویتامینD را در مورد تخریب گیرنده پروتئینی آگرین (قطعه C– ترمینال آگرین) و تخریب NMJs و بروز سارکوپنیا را در افراد سالمند بی‌تحرک مورد مطالعه قرار دادند ، نتایج یافته های آنان نشان داد که مکمل ویتامین D و فعالیت بدنی مقاومتی و توانی به طور معنی داری با کاهش تخریب آگرین و NMJ در ارتباط است (۱۷). همچنین محققان نشان دادند که تمرین ورزشی باعث فعال شدن NMJ شده و علاوه بر تغییرات ساختاری و مورفولوژیکی NMJ باعث محافظت آن در برابر سارکوپنیا می‌شود (۱۷،۱۹).در این رابطه دشن و همکاران[2]اعلام کردند که فعال سازی مکررNMJمی‌تواند موجب تغییرات معنی‌داری در عملکرد و ریخت شناختی اتصال عصبی – عضلانی شود. این محققان دریافتند که تمرینات مقاومتی (یعنی، بالا رفتن از نرده بان همراه با حمل وزنه به مدت ۷ روز)، سازگاری‌هایی را در NMJ عضله نعلی (SOL) به وجود می آورد و باعث محافظت از NMJ در برابر سارکوپنیای ناشی از پیری می شود (۱۸).

همانطور که در بالا اشاره شد در اثر بروز سارکوپنیا برخی از میوفیبریل ها به ویژه فیبر های نوع FT از بین می روند، و فیبر هایی که توسط نورون های حرکتی سریع (الیاف نوعII) عصب دهی می‌شدند توسط نرون‌های حرکتی آهسته (الیاف نوع I) مجددا عصب دهی می‌شوند. این اتفاق منجر به افزایش تار های نوع کند انقباض و در کل آتروفی عضلانی می شود، که این تغییر در تارها از مشخصه های سارکوپنیا هستند(۴،۵). در این رابطه اسپانگنبورگ و باث[3]هم اعلام کردند که تمرینات مقاومتی باعث افزایش تارهای نوع IIa در انسان و افزایش تارهای نوع IIx در موش‌ها می‌شود (۱۹) که این تغییرات ناشی از تمرینات مقاومتی در تارها در جهت معکوس با سارکوپنیا است. با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات انجام گرفته می‌توان گفت که احتمالا تمرینات ورزشی مقاومتی یکی از راهکار های مناسب درحفاظت از NMJ و پیش گیری و درمان سارکوپنیا باشد. با توجه به اینکه اثر تخریبی نوروترپسین بر NMJ و در نتیجه آن بروز سارکوپنیا به اثبات رسیده است(۹،۱۰) ولی با بررسی های به عمل آمده تا به امروز هیچ تحقیقی اثر تمرینات ورزشی را در ارتباط با نوروترپسین مورد مطالعه قرار نداده است. بنابراین با توجه به اثر مخرب نوروترپسین در تخریب NMJ، تخریب تارها و بروز سارکوپنیا در افراد سالمند، لذا بررسی اثر تمرین ورزشی بر کاهش اثرات تخریبی نوروترپسین به منظور پیشگیری از تخریب NMJ و بروز سارکوپنیا به عنوان یک راهکار درمانی مفید و بدون عارضه جانبی می تواند بسیار دارای اهمیت باشد. از طرف دیگر با توجه به اثبات نقش مثبت تمرین مقاومتی درافزایش کارایی NMJ (۱۸)، کاهش میزان تخریب آگرین(۱۷)، افزایش سنتز پروتئین و جلوگیری از آتروفی و سارکوپنیا (۷،۱۸) و تغییر فنوتیپ تارها به سمت تارهای FT که مخالف با اثر سارکوپنیا است(۱۹)، تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر ۸ هفته تمرین مقاومتی فزاینده بر میزان نوروترپسین در بافت عضلات کند انقباض نعلی (soleus) و عضله تند انقباض بازکننده طویل انگشتان پا (EDL)[4] و به طور کل به منظور پیشگیری از تخریب NMJ و بروز سارکوپنیا طراحی گردیده است.

1.Drey&etal(2013)
2.Deschenes&etal(2000)
3.Spangenburg& Booth(2003)
4.Extensor digitrumlungous(EDL)

مواد و روش ها

این پژوهش از نوع تجربی- بنیادی بوده و دارای یک گروه کنترل و یک گروه تجربی است.در این تحقیق ۲۰ سرموش صحرایی سالمند ۲۴ ماهه نژاد ویستار سالم و با میانگین وزنی ۳/۵ ± ۴۸۵ که هیچ گونه تحقیقی قبلا روی آنها انجام نشده است از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده فارماکولوژی دانشگاه تهران خریداری شد. موش ها درقفس‌های ویژه از جنس پلیکربنات شفاف و در محیط آزمایشگاهی ۲۲ درجه سانتی گراد ، رطوبت نسبی ۳۰ تا ۵۰ درصد و چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با در دسترس بودن آزاد آب و غذا نگهداری و کنترل شدند. تمام آزمایشهای صورت گرفته براساس دستورالعمل کمیته کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید بهشتی طراحیگردید.پس از یک هفته دوره آشنایی با محیط و زندگی در شرایط آزمایشگاهی حیوانات به روش تصادفی به گروه تمرین مقاومتی و کنترل تقسیم شدند.تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان (طول ۱متر،شیب ۸۵ درجه، ۲۶ پله و ۲ سانتی متر فضای بین هرپله) بود که ۳ جلسه در هفته و به مدت ۸ هفته انجام گرفت.موش ها به منظور آشنا سازی (هفته دوم) با نحوه اجرای پروتکل تمرینی ۴ روز و به مدت ۴۵ دقیقه بدون وزنه تمرین بالا رفتن از نردبان را انجام دادند. در اولین جلسه از مرحله اصلی اجرای پروتکل تمرینی، وزنه‌ها توسط یک کیسه پارچه ای باچسب لکوپلاست به دوسوم انتهای فوقانی دم موش‌های تمرینی بسته می‌شد و به منظورتحریک آزمودنیها درصورت نیاز از لمس کردند آنها جهت بالارفتن از نردبان استفاده می شد. به منظور انجام تکرار اول، وزنه ای معادل ۵۰ درصد وزن بدن موش ها به دم آنها متصل شده و به ترتیب ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد وزن بدن حیوانات برای هر تکرار افزایش می یافت. پس از حمل این وزنه ها اگر موش قادر به حمل بار بود با هر تکرار موفق ۳۰ گرم وزنه به کیسه حاوی وزنه اضافه می‌شد(۲۰) تا حیوان به واماندگی برسدکه در نهایت کل تکرار حرکات تمرینی به ۸ بار تکرارمی رسید. آخرین وزنه حمل شده قبل از واماندگی ،به عنوان وزنه حداکثر برای پروتکل جلسه بعد استفاده می شد(جدول ۱). بنابراین در جلسه های بعدی تمرین به ترتیب ۵۰ ، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰درصد وزنه حداکثر جلسه قبل استفاده می شد و به ازای هر تکرار موفق مجددا ۳۰ گرم وزنه اضافه به وزنه قبلی حمل شده اضافه می شد.با این تفاوت که بعد از واماندگی و عدم توانایی در اجرا توسط هر موش جهت جلوگیری از آسیب حیوانات و جهت تکمیل تمرین طراحی شده، با ۷۰ درصد حداکثر وزنه تمرین می کردند،به طوری که هر جلسه تمرین شامل حداقل ۶ و حداکثر ۸ تکرار بود و بین هر تکرار ۲ دقیقه استراحت وجود داشت که استراحت با رسیدن موش به بالای نردبان شروع شده و سپس بعد از اتمام استراحت مراحل بعدی تمرین تکرار می شد(۲۱).

جدول (۱) خلاصه فعالیت های حیوانات در مرحله آشناسازی و مرحله اجرای پروتکل اصلی تمرین

هفته	نوع فعالیت	نحوه اجرای تمرین
هفته اول	بدون فعالیت	آشنا سازی حیوانات با محیط آزمایشگاهی
هفته دوم	آشناسازی با نردبان تمرینی برای تمرین قدرتی	بالا رفتن از نردبان بدون وزنه به مدت ۴ روز جهت آشناسازی با تمرین

هفته	نوع فعالیت	نحوه اجرای تمرین
هفته سوم تا هفته یازدهم	اجرای پروتکل اصلی تمرین ۶-۸ تکرار در هر جلسه و ۲ دقیقه استراحت بین هر تکرار	حمل وزنه ۵۰-۷۵-۹۰-۱۰۰ درصد وزن حیوان(به ازای هر تکرار موفق ۳۰ گرم وزنه به بار تمرینی تکرار شده قبلی اضافه می شد.با این تفاوت که بعد از واماندگی هر موش، با ۷۰ درصد حداکثر وزنه به تمرین ادامه می داد،به طوری که هر جلسه تمرین شامل حداقل ۶ و حداکثر ۸ تکرار می شد و بین هر تکرار ۲ دقیقه استراحت وجود داشت.
هفته دوازدهم	عدم فعالیت به مدت ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین	بیهوشی و تشریح حیوانات

جهت از بین بردن اثرات حاد تمرین در هنگام بافت برداری ، حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین تشریح شدند. بدین منظور موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلزین (۵-۳ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش و به منظور بافت برداری از محفظه خارج و به روی میز جراحی انتقال داده شدند. با توجه به نقش متفاوت دو عضله نعلی و EDL میزان درگیری این دو عضله در تمرین مقاومتی، عضله EDL و عضله نعلی برای اندازه گیری میزان پروتئین نوروترپسین به روش وسترن بلات و با استفاده از آنتی بادی مخصوص نوروترپسین (anti-neurotrypsin antibody-catalytic domain abcam 59454) جداسازی و استخراج شدند. برای انجام تست وسترن بلات مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی آکربل آمید SDS-PAGE ۱۲٪ جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ در محلول بلاکینگ برای ۱ ساعت قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی بادی اولیه در ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شده و در روز دوم ۳ بار با محلول TBST شستشو داده و کاغذ با آنتی بادی ثانویه به مدت یک ساعت انکوبه گردید. بعد از این مرحله کاغذ ها با کیت ECL پوشانده و با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شد.در مرحله بعد بلات ها در بافر استریپینگ شستشو داده شده و آنتی بادی بتااکتین به روی کاغذ اضافه شده و دوباره با آنتی بادی ثانویه انکوبه شد و بتااکتین کنترل هم در فیلم رادیولوژی ظاهر شده و در نهایت توسط برنامه Image J باند های بدست آمده دانسیتو متری گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

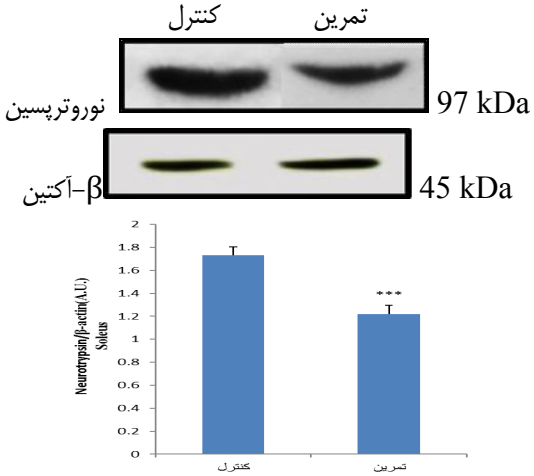
از آزمون کلموگروف -اسمیرونف برای طبیعی بودن توزیع داده ها استفاده شد و داده ها دارای توزیع نرمال بودند. همچنین از آزمون لوین برای همگن بودن واریانس ها استفاده شد و برای مقایسه تغییرات نورورترپسین گروه کنترل و گروه تمرین مقاومتی از آزمون t- مستقل استفاده گردید. سطح معنی‌داری برای تمام تحلیل های آماری $P<0.05$ در نظر گرفته شد.محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار spss 17 انجام گرفت.

یافته های تحقیق

نتایج حاصل ازتحقیق درجدول ۲ و نمودار۱و۲ نشان داده است.یافته‌ها نشان می‌دهدکه میزان نوروترپسین در عضله نعلی گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافت ($t_{(۲۲)}$ = −۱۶/۸۰۳،P≤0.001).همچنین تجزیه وتحلیل داده‌ها نشان داد که بین میزان نور وترپسین عضلاتEDLدرگروه کنترل و تمرین مقاومتی اختلاف معنی دار وجود دارد و این اختلاف در جهت کاهش میزان نوروترپسین عضله EDL گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل بود($t_{(۲۲)}$=−۱۹/۳۱۹،P≤0.001 .

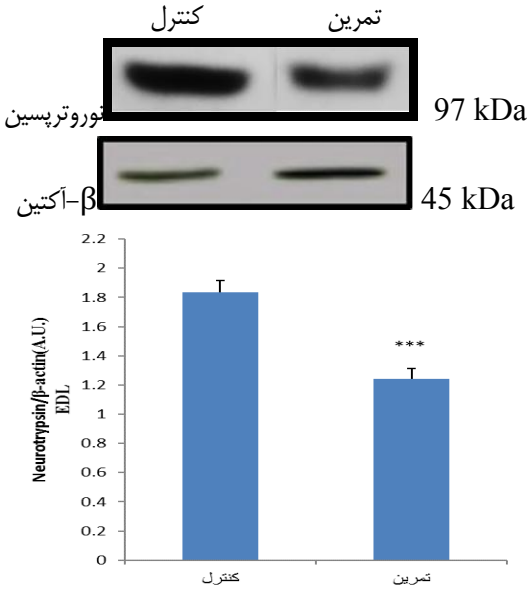
جدول (۲) میانگین (±انحراف معیار)چگالی باند نوروترپسین نسبت به β-actin در عضلات‌نعلی و EDL در گروه های تمرین و کنترل

گروه / نوروترپسین	کنترل	تمرین	t	P
عضله نعلی	۱/۷۳±۰/۰۷۳۴۸	۱/۲۲±۰/۰۷۵۲۰	−۱۶/۸۰۳	۰/۰۰۱
عضله EDL	۱/۸۳±۰/۰۷۷۵۹	۱/۲۴±۰/۰۷۳۶۶	−۱۹/۳۱۹	۰/۰۰۱



نمودار (۱) .مقایسه میانگین (± انحراف معیار) میزان نوروترپسین عضله نعلی موش های سالمند گروه کنترل و گروه تمرین مقاومتی

*** اختلاف معنی دار بین گروه ها در سطح <0.001P.



نمودار (۲) .مقایسه میانگین (± انحراف معیار) میزان نوروترپسین عضله EDL موش های سالمند گروه کنترل و تمرین مقاومتی

*** اختلاف معنی دار بین گروه ها در سطح P<0.001.

بحث و نتیجه گیری

هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر یک دوره تمرین مقاومتی فزاینده بر میزان نوروترپسین در موش های نر ویستار بود.نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین مقاومتی باعث کاهش معنی دار در میزان نوروترپسین عضلات تند انقباض بازکننده طویل انگشتان شد. همچنین چنین کاهش معنی داری در میزان نوروترپسین در عضلات کند انقباض نعلی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد.تجزیه و تحلیل بیشتر داده ها نشان داد که میزان اولیه نوروترپسین در تار های تند انقباض بیشتر از تار های کند انقباض بود ولی میزان کاهش نوروترپسین در عضله کند نعلی بیشتر از تار های تند EDL بود. همانطوری که قبلا اشاره شد نوروترپسین یک فاکتور عصبی بوده و از مغز و موتونورون‌ها آزاد شده و با تخریب آگرین و NMJ باعث بروز سارکوپنیا می‌شود. با توجه به نتایج به دست آمده کاهش میزان نوروترپسین در اثر هشت هفته تمرین مقاومتی می‌تواند بیانگر سازگاری عصبی-عضلانی با تمرین مقاومتی باشد. اگر چه با توجه به بررسی های بعمل آمده هیچ تحقیقی در مورد تغییرات نوروترپسین با ورزش صورت نگرفته است ولی دلیل کاهش میزان نوروترپسین در اثر تمرین مقاومتی را از دو جنبه می توان تجزیه و تحلیل کرد.اول اینکه احتمالا در اثر سازگاری ناشی از تمرین مقاومتی میزان تولید نوروترپسین در موتونورون ها که جایگاه تولید نورترپسین است کاهش یافته است که می تواند بر میزان رهایش و اثر تخریبی آن تاثیر گذار باشد.دوم اینکه تمرین مقاومتی باعث مهار آزاد شدن نوروترپسین از موتونورون ها به صفحه محرکه شده است که در نتیجه آن می تواند اثر تخریبی آن بر NMJ را کاهش داده و از تخریب NMJ و بروز سارکوپنیا پیشگیری نماید. باید یاد آور شد که معمولا در سالمندی به دلیل تخریب NMJ که یکی از دلایل

آن نوروترپسین است (۱۰،۹) ارسال سیگنال های عصبی از مراکز عصبی فوقانی به عضلات دچار اختلال می شود که در این حالت فعالیت تحریکی عضلات کاهش یافته و دچار آتروفی، تحلیل، تخریب و افت عملکرد در دوره سالمندی می شود (۸)، لذا با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر در رابطه با کاهش نوروترپسین می توان گفت که تمرین مقاومتی علاوه بر جلوگیری از اختلال ارسال سیگنال های عصبی به عضلات و جلوگیری از تخریب NMJمی تواند به پیشگیری از بروز سارکوپنیا کمک نماید.همچنین در رابطه با اثرات نوروترپسین در بروز سارکوپنیا، یافته های تحقیقی به ویژه در موش های ترانس ژنی (تراریخته) نشان داده اند که اثر تخریبی نوروترپسین بر NMJ از طریق تخریب آگرین (پروتئین کلیدی NMJ) صورت می گیرد که در این فرایند آگرین توسط نوروتریپسین شکافته و تخریب شده و از این طریق عملکرد محافظت سیناپسی آگرین از بین می رود که پیامد آن تخریب و بی ثباتی اتصال عصبی – عضلانی و بروز سارکوپنیا و حتی سارکوپنیای زودرس است. در این رابطه تحقیقات اعلام کرده اند که آگرین در واقع یک هدف پروتئولیتیک نوروتریپسین در شرایط in vitro و in vivo است (۱۱،۱۰،۹). بنابراین کاهش در میزان نوروترپسین در اثر تمرین ورزشی می تواند از تخریب آگرین و NMJ و بروز سارکوپنیا جلوگیری نماید. در این رابطه درای همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تمرین توانی و مقاومتی همراه با مکمل ویتامینD باعث کاهش تخریب آگرین، NMJs شده و مانع از بروز سارکوپنیا در افراد سالمند می شود (۱۷). اگرچه این محققان میزان تغییرات نوروترپسین را که عامل تخریب آگرین است در تحقیق خود اندازه گیری نکردند ولی اعلام کردند که احتمالا یکی از دلایل کاهش تخریب آگرین کاهش میزان نوروترپسین بوده است. با توجه به اینکه در تحقیق حاضر در اثر تمرین مقاومتی میزان نوروترپسین کاهش یافتلذا می توان گفت که احتمالا یکی از علل کاهش تخریب آگرین می تواند به دلیل سازگاری عصبی–عضلانی ایجاد شده در اثر تمرین و کاهش میزان نوروترپسین باشد.

از طرف دیگراختلال در عملکرد واحد های حرکتی،آکسون ها و NMJ از دلایل مهم بروز سارکوپنیا هستند ولی تحقیقات نشان داده اند که تمرینات ورزشی می توانند از تخریب NMJ و بروز سارکوپنیا پیشگیری نمایند (۷،۲،۱۷).در ارتباط با اثر تمرین ورزشی بر ساختار و عملکرد NMJ ، دشن و همکاران اعلام کردند که فعال سازی مکرر اتصال عصبی – عضلانی می‌تواند موجب تغییرات معنی‌داری در عملکرد و ریخت شناختی اتصال عصبی – عضلانی شود. این محققان دریافتند که تمرینات مقاومتی (یعنی، بالا رفتن از نرده بان همراه با حمل وزنه به مدت ۷ روز)، سازگاری‌هایی را در اتصالات عصبی – عضلانی عضله نعلیبه وجود می آورد (۱۸). همچنین در این ارتباط درای و همکاران اعلام کردند که فعالیت توانی و قدرتی با افزایش فعالیت NMJ ، موجب کاهش تخریبC–ترمینال آگرین (CAF)[1] و به دنبال آن کاهش تخریب NMJ در افراد سالمند می شود (۱۷). آگارد و همکاران[2] هم نشان دادندکه تمرینات قدرتی به ویژه تمرینات توانی موجب فعالیت بالای NMJشدهو می تواند کارایی NMJ را بالا ببرد (۲۲).با توجه به این که در تحقیق حاضر در اثر اجرای تمرین مقاومتی نوروترپسین در عضلات نعلی و EDL کاهش یافت که دلیل آن می تواند فعال شدن موتونورون ها و NMJ باشد، لذا یافته تحقیقی حاضر با یافته های این محققان مبنی بر اینکه تمرین مقاومتی می تواند باعث افزایش فعالیت NMJشود همخوانی دارد. در مورد مکانیزم احتمالی فعال شدن موتونورون ها و NMJ در اثر تمرین مقاومتی می توان گفت کهدر اثر اعمال فشار مکانیکی در عضلات تحت فشار به هنگام حمل وزنه های تمرینی، کششی در راستای

1.C-terminal Fragment of Agrin
2.Aagaard&etal(2010)

نیروی جاذبه زمین ایجاد می کند و موش ها علاوه بر غلبه بر این نیروی اعمال شده به طرف زمین در جهت مخالف و به سمت بالای نردبان حرکت می کردند که در این حالت کشش مضاعفی در ناحیه دوک های عضلانی و اندام وتری و گلژی ایجاد می شد و احتمالا از این طریق با ارسال سیگنال های عصبی، بر فعالیت موتونورون های کهبخشی از ساختار NMJمحسوب می شود اثر گذاشته و موجبکاهش ساخته شدن نوروترپسین و یا مهار آزاد شدن آن از موتونورون ها شده است.

یکی دیگر از تغییرات عمده در سارکوپنیا آسیب پذیری بیشتر تارهای FT نسبت به ST و کاهش در اندازه هردو نوع تار FT و ST است ولی کاهش تار های نوع FT در مقایسه با تار های نوع ST در اثر افزایش سن و سارکوپنیا شدیدتر است (۸،۵،۴). با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر،شاید یکی از دلایل احتمالی تغییرات و آسیب پذیری تارهای عضلانی بالا بودن میزان نوروترپسین در این تار ها باشد، به دلیل آنکه در نتایج تحقیق حاضر، میزان نوروترپسین در تار های FT بیشتر از ST بوده است لذا می توان گفت یکی از دلایل احتمالی تخریب بیشتر تار های FT به دلیل بالا بودن میزان نوروترپسین در این نوع تارها و به دنبال آن آسیب NMJ تار های FT باشد.در این رابطه نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در اثر تمرین مقاومتی میزان نوروترپسین در هر دو نوع تار های FT و ST کاهش یافت ولی این کاهش در تارهای کند انقباض نعلی بیشتر از تند انقباض EDL بود که این مسئله می تواند به دلیل بالا بودن سن موش ها، میزان فشار اعمال شده به عضلات در این نوع تمرین و سازگاری ایجاد شده بیشتر در تار های ST باشد که در این زمینه به تحقیقات بیشتری نیاز است.

به طور خلاصه نتایج این پژوهش نشان داد که هشت هفته تمرین مقاومتی در کاهش میزان نوروترپسین و اثرات تخریبی آن بر NMJ در عضلات موش های ویستار بسیار موثر بود که این تغییرات هم درعضلات تند انقباض (EDL) و هم عضلات کند انقباض(نعلی) مشاهده شد که احتمالا این کاهش در اثر کاهش تولید نوروترپسین در سلول‌های سازنده آن و یا به دلیل مهار رهایش آن از سیستم عصبی و به ویژه از انتهای موتونورون ها به صفحه محرکه بوده است. همچنین در سارکوپنیا تار های FT و ST آسیب می بینند ولی تخریب تارهای FT بیشتر است که در تحقیق حاضر هم نشان داده شد که میزان نوروترپسین در تار های FT بالاتر از تارهای ST بود لذا انجام تمرین مقاومتی می تواند در با کاهش اثر تخریبی نوروترپسین از عضلات افراد سالمند محافظت نماید.در نهایت با توجه به اثر تخریبی نوروترپسین در NMJ و بروز سارکوپنیا احتمالا تمرین مقاومتی نقش مناسبی در کاهش نوروترپسین و پیشگیری و درمان سارکوپنیا و آتروفی عضلات در افراد سالمند ایفاء نماید.لذا به افراد سالمند که دچار ضعف عضلانی شده و در اجرای فعالیت روزانه خود دچار مشکل شده اند به منظور پیشگیری از وخیم تر شدن شرایط جسمانی شان و همچنین با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق تمرینات مقاومتی را در برنامه زندگی خود جایگزین نمایند.

References:

1.Greenlund LJ, Nair KS. 2003. Sarcopenia--consequences, mechanisms, and potential therapies. Mech Ageing Dev. 124(3): 287-99.

2.Lang T, et al. 2010. Sarcopenia etiology, clinical consequences, intervention, and assessment. Osteoporos Int. 21(4): 543-59.

3.Si-Jin Meng,Long-Jiang Yu. 2010. Oxidative Stress, Molecular Inflammation and Sarcopenia. Int J Mol Sci. 11:1509-1526.

4.Deschene MR .2004. Effects of aging on muscle fybre type and size. Sports Medicine, vol. 34(12):809–824.

5.Kung TA, Cederna PS, van der Meulen JH, Urbanchek MG, Kuzon WM Jr, Faulkner JAv.2013.Motor Unit Changes Seen With Skeletal Muscle Sarcopenia in Oldest Old Rats. J Gerontol A BiolSci Med Sci. 28(42):563-579.

6. Dirks AJ, Leeuwenburgh C. 2005. The role of apoptosis in age related skeletal muscle atrophy. Sports Medicine.35 (6):473–483.

7.Deschenes MR, Roby MA, Eason MK, Harris MB. 2010. Remodeling of the neuromuscularjunction precedes sarcopenia related alterations in myofibers. Exp.Gerontol. 45: 389–393.

8. Abellan van Kan G. 2009. Epidemiology and consequences of sarcopenia. J. Nutr.Health Aging .13:708–712.

9.Butikofer L, Zurlinden A, Bolliger MF, Kunz B, Sonderegger P. 2011. Destabilizationof the neuromuscular junction by proteolytic cleavage of agrin results inprecocious sarcopenia. FASEB J. 25: 4378–4393.

10.Bolliger MF, Zurlinden A, Luscher D, Butikofer L, Shakhova O, Francolini M ,Kozlov SV, Cinelli P, Stephan A, Kistler AD, Rulicke T, Pelczar P,Ledermann B, Fumagalli G , Gloor SM, Kunz B, Sonderegger P. 2011. Specificproteolytic cleavage of agrin regulates maturation of the neuromuscular junction.J. Cell Sci. 123: 3944–3955.

11.Reif R, Sales S, Hettwer S, Dreier B, Gisler C, Wolfel J, Luscher D, Zurlinden, A, Stephan A, Ahmed S, Baici A, Ledermann B, Kunz B, Sonderegger P. 2007.Specific cleavage of agrin by neurotrypsin, a synaptic protease linked to mental retardation. FASEB. J. 21: 3468–3478.

12.Gingras J, Rassadi S, Cooper E. & Ferns M. 2002.Agrin plays an organizing role in the formation of sympathetic synapses. The Journal of cell biology.158:1109-1118.

13. Tsen G, Halfter W, Kröger S, Cole GJ.1995. Agrin is a heparan sulfate proteoglycan. J Biol Chem. 270 (7): 3392–3399.

14. Haitao W, Wen C, Xiong and Lin Mei. 2010. To build a synapse: signaling pathways in neuromuscular junction assembly. Development. 137: 1017-1033.

15.Kroger S, Schröder JE. 2002. Agrin in the developing CNS: new roles for a synapse organizer. News Physiol. Sci. 17 (5): 207–12.

16.Sanes JR, Apel ED, Gautam M, Glass D, Grady RM, Martin PT, Nichol MC, Yancopoulos GD 1998. "Agrin receptors at the skeletal neuromuscular junction". Ann. N. Y. Acad. Sci. 841: 1–13.

17.Drey M , Sieber CC , Bauer JM, Uter W, Dahinden P, Fariello RG, Vrijbloed JW. and the FiAT intervention group.2013. C-terminal Agrin Fragment as a potential marker for sarcopenia caused by degeneration of the neuromuscular junction. Experimental Gerontology. 48 :76–80.

18.Deschenes MR,Judelson DA, Kraemer WJ. 2000 .Effects of resistance training on neuromuscular junction morphology. Muscle Nerve .23:1576–1581.

19.SpangenburgEE, Booth FW. 2003. Molecular regulation of individual skeletal muscle fibre types. ActaPhysiol Scand.178:413–424.

20.Sukho Lee, Elisabeth R,BartonH,Lee Sweeney, Roger P Farrar.2004.Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. J ApplPhysiol 96: 1097–1104.

21.Matheny W, Merritt E, Zannikos SV, Farrar RP, Adamo ML. 2009. Serum IGF-I deficiency does not prevent compensatory skeletal muscle hypertrophy in resistance exercise.Experimental Biology and Medicine.234(2):164-70.

22.Aagaard P, Suetta C, Caserotti P, Magnusson SP, Kjaer M. 2010. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure.Scand. J. Med Sci Sports 20:49–64.