


Association of Age with the Expression of Denervation Marker in the Neuromuscular Junction of Male Wistar Rats

Zeinab Sadat Geramian¹, Mohammadreza Kordi^{1*}, Fateme Shabkhiz¹,
Seyed Behnamedin Jameie²

¹Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

²Neuroscience Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

*Corresponding Author:
Mohammadreza Kordi;
Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

Email:
mrkordi@ut.ac.ir,
mrkordi330@gmail.com

Received: 11 Dec, 2019
Accepted: 14 Jun, 2020

Abstract

Background and Objectives: One of the major problems during aging is sarcopenia, which one of its important involved mechanisms is loss of motor neurons. The aim of this study was to investigate the association of age with the expression of denervation marker in the neuromuscular junction of male Wistar rats.

Methods: In this study, 7 young adult male rats of 4 to 6 months of age and 7 old male rats of 24 to 26 months of age, were tested. After a two-week familiarization period, the soleus and plantaris muscles of the rats were removed, embedded, and subjected to immunohistochemically staining to determine the neuromuscular junction site and neural cell adhesion molecule (NCAM) expression rate. The results were analyzed by analysis of variance at the significant level of $p \leq 0.01$.

Results: The results showed that the expression of NCAM was significantly higher in the aged group compared to the young adult group, and in both groups, the expression rate of this protein in the fast plantaris muscle was more than slow soleus muscle.

Conclusion: With age, the peripheral nerve degradation process occurs in both slow contraction muscles and fast contraction muscles, but the severity of this denervation is higher in the fast contraction muscles compared to the slow contraction muscles.

Keywords: Denervation; Atrophy; Sarcopenia; NCAM; Aging.

DOI: 10.29252/qums.14.3.35

رابطه سن با بیان شاخص بدون عصب شدن در پیوندگاه عصبی عضلانی موش‌های صحرایی نر ویستار

زینب السادات گرامیان^۱ ID، محمدرضا کردی^{۱*} ID، فاطمه شب‌خیز^۱ ID، سید بهنام‌الدین جامعی^۲ ID

چکیده

زمینه و هدف: یکی از مشکلات عمده در دوران پیری، سارکوپنیا است که از سازوکارهای مهم درگیر در آن می‌توان به ازدست‌رفتن نورون‌های حرکتی اشاره کرد. هدف از این پژوهش بررسی ارتباط سن با بیان شاخص بدون عصب شدن در پیوندگاه عصبی عضلانی موش‌های صحرایی نر ویستار است.

روش بررسی: در مطالعه حاضر ۱۴ سر موش صحرایی نر ۴ تا ۶ ماهه بالغ جوان (n=۷) و ۲۴ تا ۲۶ ماهه پیر (n=۷) آزموده شدند. پس از دو هفته دوره آشناسازی، عضلات سولئوس و پلاتتاریس رت‌ها استخراج و قالب‌گیری شد و به منظور تعیین محل پیوندگاه‌های عصبی عضلانی و میزان بیان NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule) تحت رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی قرار گرفت. نتایج با استفاده از آزمون تحلیل واریانس در سطح معناداری $P \leq 0.01$ بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد میزان بیان NCAM در گروه پیر به‌طور معناداری بیشتر از گروه بالغ جوان است و در هر دو گروه بیان این پروتئین در عضله تندانقباض پلاتتاریس بیش از عضله کندانقباض سولئوس است.

نتیجه‌گیری: با افزایش سن روند تخریب اعصاب محیطی در هر دو عضله کندانقباض و تندانقباض اتفاق می‌افتد که به نظر می‌رسد شدت این عصب‌زدایی در تارهای تندانقباض بیش از تارهای کندانقباض است.

کلیدواژه‌ها: عصب‌زدایی؛ آتروفی؛ سارکوپنیا؛ NCAM؛ پیری.

^۱گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

^۲مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

محمدرضا کردی؛ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

mrkordi@ut.ac.ir
mrkordi330@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۲۵

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Geramian ZS, Kordi M, Shabkhiz F, Jameie SB. Association of Age with the Expression of Denervation Marker in the Neuromuscular Junction of Male Wistar Rats. Qom Univ Med Sci J 2020;14(3):35-44. [Full Text in Persian]

بدون عصب شده ناشی از روند طبیعی پیری نیز نقش داشته باشد یا خیر و سازوکارهای بالقوه آن به خوبی شناخته نشده است. به نظر می‌رسد عملکرد پایانه‌های عصبی به وضعیت سلامت نوروهای حرکتی، تارهای عضلانی و تبادل پیام‌های رشدی بین این دو بستگی دارد و رشد نوروها تا حد زیادی تحت تأثیر عوامل رشدی و یا مهارتی عصبی باشد (۱۰). مولکول چسبان سلول عصبی (NCAM) یکی از عوامل مهم درگیر در رشد اکسونی است (۱۱) و بیان آن در سطح محیطی یا بدون عصب-زدایی همبستگی دارد (۹، ۱۲)، به طوری که مطالعات آن را شاخص بدون عصب شدن دانسته‌اند (۱۳، ۱۴). مطالعات متعددی (۱۵، ۱۶) به بررسی بیان این پروتئین در سیستم عصبی مرکزی پرداخته و نشان داده‌اند بیان NCAM با افزایش سن کاهش یافته است. در مقابل، مطالعات اندکی بیان NCAM را در سطح عضلانی در نمونه‌های پیر بررسی کرده‌اند که نتایج متناقضی داشته‌اند، به طوری که برخی میزان آن را در اثر پیری همراه با افزایش (۱۶) و برخی همراه با کاهش (۱۷) گزارش کرده‌اند. با توجه به نبود مطالعات مولکولی کافی در حوزه پیری به ویژه در داخل کشور به دلایلی چون دشواری دسترسی به نمونه‌های حیوانی پیر و از سویی اهمیت درک مکانیزم‌های دخیل در این نوع بدون عصب شدن به منظور کنترل آن (۲)، پژوهشگران بر آن شدند رابطه سن را با بیان NCAM به عنوان شاخص بدون عصب شدن (۱۳، ۱۸) و عامل کلیدی تعیین کننده ظرفیت بازسازی عصبی در پیری (۱۷) بسنجند. با توجه به اینکه آتروفی ناشی از پیری بیشتر در مردان (۱۹) و در اندام تحتانی اتفاق می‌افتد (۲۰)، عضله پای رت‌های نر برای بررسی انتخاب شد. از آنجایی که برخی مطالعات آتروفی ناشی از پیری را در هر دو نوع تار عضلانی تند انقباض و کند انقباض به یک میزان (۲۱، ۲۲) و برخی در تارهای تند انقباض بیشتر دانسته‌اند (۲۳، ۱۱)، در پژوهش حاضر هر دو نوع تار عضلانی تند پلانتریس (۲۴) و کند سولنوس (۲۴) بررسی شد؛ بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی رابطه سن با بدون عصب شدن محیطی در پیوندگاه عصبی عضلانی عضله پلانتریس و سولنوس رت‌های پیر و بالغ جوان خواهد بود.

پیری فرایندی است که به کاهش استقلال فرد در اثر بروز سارکوپنیا منجر می‌شود. یکی از مهم‌ترین تظاهرات سارکوپنیا، کاهش توده خالص عضلات است که پیامدهای آن سالانه هزینه‌های هنگفتی را بر جامعه سالمندی تحمیل می‌کند (۱). تا به امروز، بیشتر مطالعات در زمینه سارکوپنیا بر تغییرات پروتئین عضلانی، مقاومت آنابولیک و سلول‌های بنیادی متمرکز شده‌اند و تعاملات حیاتی میان اعصاب و عضلات تا حد زیادی نادیده گرفته شده است (۲). این در حالی است که بر اساس شواهد، یکی از سازوکارهای مهم درگیر در سارکوپنیا، ازدست رفتن نوروهای حرکتی است (۳، ۴).

برخی مطالعات علت اصلی آتروفی ناشی از سن را ازدست رفتن نوروهای حرکتی مغز و نخاع دانسته‌اند (۵). این فرضیه اخیراً به چالش کشیده شده است. به نظر می‌رسد نوروهای اندکی در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی تخریب می‌شوند (۲) و آتروفی ناشی از پیری عمدتاً حاصل عصب‌زدایی محیطی است. ظاهراً الگوی بدون عصب شدن در پیری از پیوندگاه عصبی عضلانی آغاز می‌شود و به جسم سلولی پیشروی می‌کند (۳). به طور طبیعی تارهای بدون عصب شده به وسیله اکسون نوروهای حرکتی مجاور بازعصب گیری می‌شوند، اما این فرایند در پیری دچار اختلال می‌شود و تخریب تار عضلانی و آتروفی عضلانی را به همراه خواهد داشت (۳). چنانچه پیش‌از این نشان داده شد، تارهای بدون عصب در رت‌های پیر ۳۵ تا ۵۰ درصد کوچک‌تر از تارهای عصب‌دار و تارهای عصب‌دار پیر ۷ درصد کوچک‌تر از تارهای عصب‌دار جوان است (۶). این امر حاکی از آن است که بدون عصب شدن، عامل اولیه آتروفی در دوران پیری است (۶) و علت احتمالی انباشت دائمی تارهای بدون عصب، نارسایی بازعصب گیری است.

چنانچه مطالعات قبلی نشان داده است، اختلال در بازعصب گیری تارهای بدون عصب شده در پی یک آسیب حاد در افراد پیر ناشی از اختلال در بازسازی اکسونی است (۷، ۸). با وجود این شواهد، اطلاعات ناچیزی (۹) در این مورد در دست است که آیا این اختلال در رشد مجدد اکسون که در حیوانات سالم تحت مداخله عصب‌زدایی مشاهده شده است، می‌تواند در تجمع پایدار تارهای

روش بررسی

نگهداری و تغذیه موش‌ها

به منظور اجرای مطالعه حاضر ۱۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۴ تا ۶ ماهه ($n=7$) به عنوان گروه بالغ جوان (۲۵) و ۲۴ تا ۲۶ ماهه ($n=7$) به عنوان گروه پیر (۲۵) از مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی کرج تهیه شد. رت‌ها در آزمایشگاه حیوانات در اتاقی به ابعاد ۱/۶۰ در ۲/۲۰ متر در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۷ صبح و شروع خاموشی ۷ عصر)، دما (20 ± 3 درجه سانتی‌گراد) و رطوبت (45 ± 5 درصد) نگهداری شدند. حیوانات در گروه‌های سه تایی در قفس‌های پلاستیکی با درب توری به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید، مراحل قربانی کردن و استخراج بافت انجام شد.

استخراج بافت

در ابتدا رت‌ها با ترکیب زایلین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند (۲۶) و در محیطی استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت خلفی ساق پای راست، عضلات پلانتاریس و سولئوس استخراج شد و در فرمالین ۱۰ درصد برای برش زدن و آزمایش‌های ایمنو هیستوشیمیایی قرار داده و تا انجام قالب‌گیری در دمای اتاق نگهداری شد.

برش بافت و روش ایمنو هیستوشیمی

۴۸ ساعت پس از فیکس کردن بافت‌ها در فرمالین، نمونه‌ها با الکل آبگیری و پس از شفاف سازی با گزلیل، پارافینه و در نهایت قالب‌گیری شد. از هر نمونه برش‌هایی با ضخامت ۱۰ میکرون به صورت طولی و عرضی تهیه شد. نمونه‌های برش داده شده برای یک ساعت در دمای اتاق، با فرمالدئید ۴ درصد فیکس شدند. پس از مرحله بازیابی آنتی ژن با HCL، در PBS شست و شو داده و برای ۳۰ دقیقه در تریتون، بافر ۱۰ درصد سرم بز و BSA انکوبه شدند (۲۷).

مشخص کردن صفحه انتهایی

به منظور مشخص کردن پیوندگاه عصبی عضلانی (گیرنده‌های استیل کولینی)، از آلفا بونگاروتوکسین (Tetramethylrhodamine- α -Bungarotoxin) (Biotium, 00012) استفاده شد، به طوری که نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه با آلفا بونگاروتوکسین به مقدار ۵۰ nm انکوبه و سپس سه بار با PBS شست و شو داده شدند. در نهایت برای رنگ آمیزی هسته به آن‌ها DAPI اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه نمونه‌ها مجدداً با PBS شست و شو داده شدند (۲۸).

اندازه‌گیری تجمع پروتئین NCAM در پیوندگاه عصبی عضلانی

نمونه‌ها با آنتی بادی اولیه NCAM (SC-۷۳۲۶) رقیق سازی شده با PBS به نسبت ۱ به ۲۰۰ (بر اساس دستورالعمل مندرج در کاتالوگ مربوطه) برای یک شب انکوبه شدند. سپس سه بار با PBS شست و شو داده و با آنتی بادی ثانویه انکوبه شدند (۲۷). برای اندازه‌گیری تجمع پروتئین NCAM در پیوندگاه عصبی عضلانی به طور میانگین حداقل ۱۰ NMJ (Neuromuscular junction) در هر عضله بررسی شد.

برای تأیید نشانگرها، نمونه‌ها با میکروسکوپ فلوروسنت (Olympus light microscope; Tokyo, Japan) با بزرگ‌نمایی ۴۰ مشاهده شدند و از پنج فیلد به صورت تصادفی عکس برداری شد و با نرم افزار Imagej (image J software, microsoft java) در درصد بیان پروتئین نسبت به درصد هسته‌ها بررسی شد (۲۹).

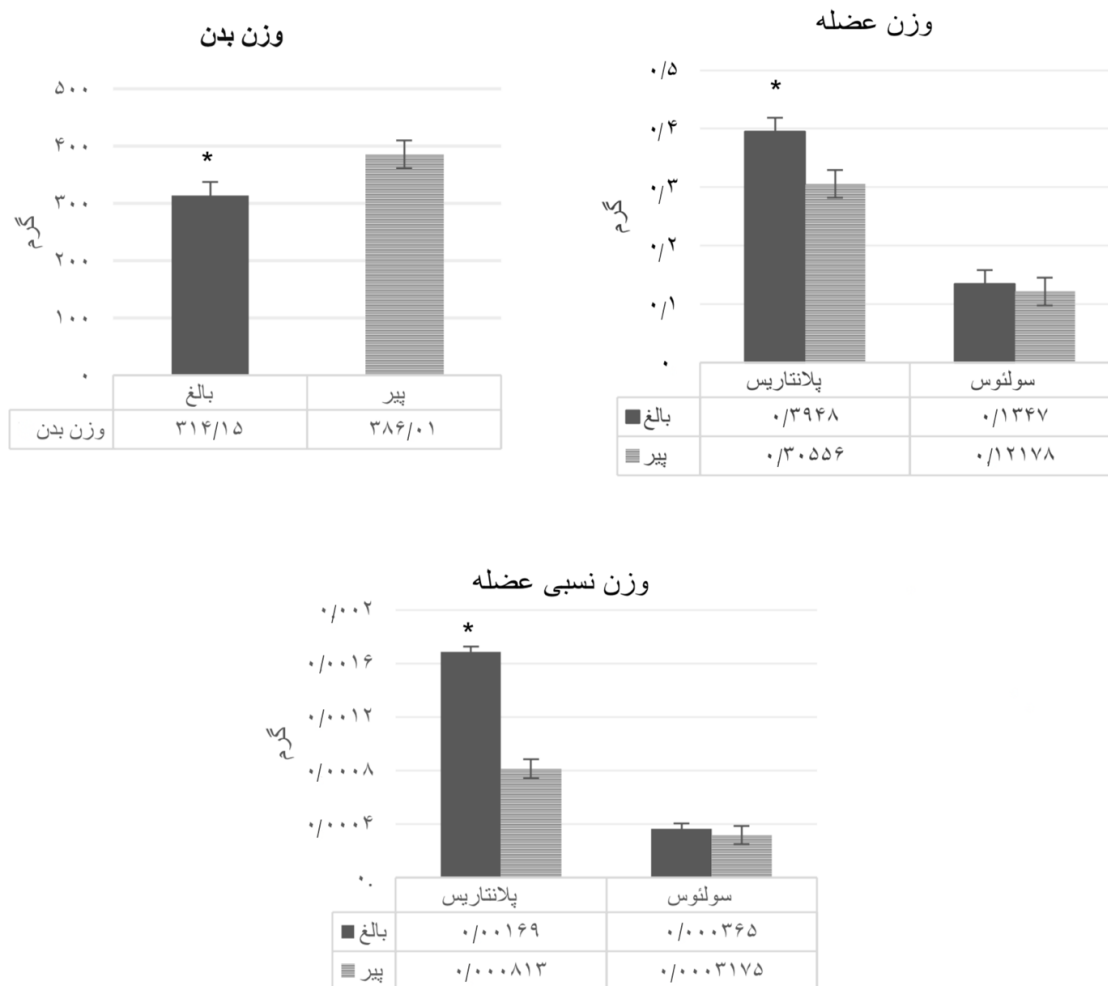
روش تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف و برای همسان بودن واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. برای بررسی معناداری تغییرات متغیرهای وابسته از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) با سطح معنی داری $P \leq 0.01$ استفاده شد. تمام بررسی‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام گرفت.

یافته‌ها

درحالی‌که وزن مطلق و نسبی عضله پلانتاریس آن‌ها به شکل معناداری میزان کمتری را در مقایسه با رت‌های بالغ جوان نشان داد ($P \leq 0/01$) (نمودار ۱). وزن مطلق و نسبی عضله سولتوس نیز در رت‌های پیر کمتر بود که میزان آن از لحاظ آماری معنادار نبود.

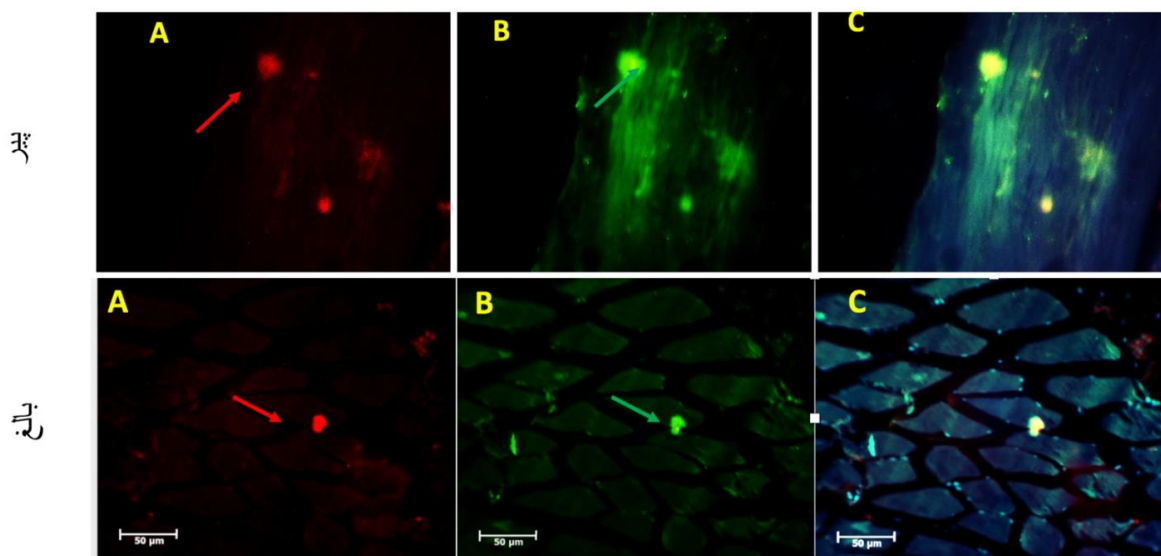
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه بین گروهی وزن بدن و وزن مطلق و نسبی (نسبت وزن عضله به توده بدن) عضله پلانتاریس و سولتوس موش‌های صحرایی نشان داد وزن بدن رت‌های پیر به‌طور معناداری بیشتر از رت‌های بالغ جوان است ($P \leq 0/01$) (نمودار ۱).



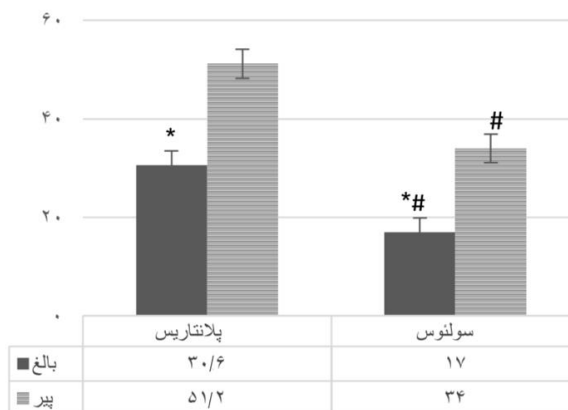
نمودار شماره ۱: وزن بدن، وزن عضلات و وزن نسبی عضلات پلانتاریس و سولتوس در دو گروه سنی
*تفاوت معنادار میان دو گروه سنی $P \leq 0/01$

همچنین میان نوع تار عضلانی و میزان بیان NCAM در پیوندگاه عصبی عضلانی نمونه‌های این پژوهش رابطه معناداری مشاهده شد ($P \leq 0/01$) (شکل ۱)؛ اما تعامل سن و نوع تار عضلانی بر میزان بیان NCAM در نمونه‌های پژوهش حاضر رابطه معناداری را نشان نداد.

در تصویربرداری میکروسکوپی میزان بیان پروتئین NCAM در پیوندگاه عصبی عضلانی رت‌های ۲۴ تا ۲۶ ماهه به‌طور معناداری از میزان بیان آن در پیوندگاه عصبی عضلانی رت‌های بالغ جوان بیشتر بود ($P \leq 0/01$) (شکل ۱).



بیان NCAM



شکل شماره ۱: A. تار عضلانی در معرض بوتولینوتوکسین؛ B. تار عضلانی در معرض آنتی‌بادی اولیه؛ C. ادغام دو تصویر با رنگ آمیزی هسته

* تفاوت معنادار میان دو گروه سنی $P \leq 0.01$

تفاوت معنادار میان دو گروه عضلانی $P \leq 0.01$

بحث

در مطالعه‌ای که اخیراً Hendrickse و همکاران (۱۲) انجام دادند به‌طور مشابهی میزان NCAM در نمونه‌های پیر بیشتر بود. در مقابل، Gillon و Sheard (۱۷) میزان بیان NCAM را در نمونه‌های پیر کمتر از نمونه‌های جوان گزارش آن‌ها در پژوهش خود نمونه‌ها را تحت عصب‌زدایی به روش جراحی (له‌شدن) قرار دادند و میزان بیان NCAM در نمونه‌های پیر و جوان را طی فرایند بازعصب‌گیری اندازه‌گیری کردند. این پژوهشگران افزایش ۳۳ درصدی را در بیان NCAM در عضله بازکننده طویل انگشتان پای (Extensor digitorum longus) رت‌های جوان گزارش کردند، در حالی که در گروه پیر افزایشی مشاهده نکردند.

در بررسی یافته‌ها میزان بیان NCAM در پیوندگاه عصبی عضلانی رت‌های پیر به‌طور معناداری بیشتر از رت‌های جوان بوده است (شکل ۱). چنانچه مطالعات پیشین نشان داده است NCAM شاخص عصب‌زدایی است (۱۳، ۱۸) و افزایش آن در رت‌های پیر در مطالعه حاضر با عصب‌زدایی ناشی از پیری (۳۰، ۳۱) همخوانی دارد. Urbanek و همکاران (۱۱) میزان NCAM را در نمونه‌های پیر و جوان مقایسه کردند و شاهد افزایش ۴۰ درصدی این پروتئین در نمونه‌های پیر بودند. کردند.

حال آنکه در مطالعه Flood و همکاران (۵) از روش های تخمینی استفاده شده است که به اذعان نویسندگان، ضریب اطمینان کمتر و احتمال خطای بیشتری در مقایسه با روش عینی سنجش بیان پروتئین به کاررفته در مطالعه حاضر دارد (۲۸).

در بررسی یافته ها میزان بیان NCAM در هر دو گروه پیر و بالغ جوان در تارهای عضلانی تندانقباض عضله پلان تارپس به طور معناداری بیشتر از تارهای کندانقباض عضله سولئوس بوده است (نمودار ۱). Aagaard (۲۳) و Urbanchek (۱۱) نیز در مطالعات خود نتایج مشابهی به دست آوردند که حاکی از وابسته بودن عصب زدایی ناشی از سن به خصوصیات عضله است (۱۱). در واقع در سراسر طول عمر عضلات همواره تحت چرخه عصب زدایی و بازعصب گیری هستند و چنانچه روند ازدست رفتن عصب از بازعصب گیری پیشی گیرد، تخریب تار عضلانی و آتروفی عضلانی را به همراه خواهد داشت (۳۳).

به نظر می رسد بازعصب گیری در تارهای عضلانی کندانقباض نوع یک سریع تر از تارهای تندانقباض نوع دو اتفاق می افتد. با افزایش سن این روند به بازعصب گیری ترجیحی تارهای نوع یک منجر می شود (۳۴)؛ بنابراین، همگام با افزایش سن، روند عصب زدایی در تارهای تندانقباض شدیدتر و به دنبال آن بیان NCAM در این نوع تار افزایش می یابد که در مطالعه Aagaard (۲۳) نیز نشان داده شده است. از سویی، کاهش مطالبه جسمانی نیز به افزایش عصب زدایی منجر می شود (۳۵). به طور طبیعی، در حرکات روزمره عضلات تندانقباض کمتر از عضلات کندانقباض استفاده می شود (۳۶). این موضوع می تواند در جوان ها نیز تارهای تندانقباض را بیش از کندانقباض تحت چرخه عصب زدایی قرار دهد که می تواند یکی از دلایل احتمالی بیشتر بودن NCAM در عضله تندانقباض نمونه های بالغ جوان باشد (شکل ۱).

یافته های پژوهش حاضر نشان داد وزن بدن رت ها در اثر پیری افزایش معناداری داشته است (نمودار ۱). حال آنکه وزن عضله و همچنین وزن نسبی عضله در رت های پیر کمتر از رت های جوان بالغ بوده است که می تواند با مطالعات پیشین (۳۵) حاکی از کاهش توده عضلانی و افزایش توده چربی در اثر افزایش سن همسو باشد.

یکی از دلایل تفاوت در نتایج مطالعه حاضر با مطالعه Gillon و Sheard می تواند ناشی از این باشد که در مطالعه یادشده فقط میزان تغییر بیان NCAM گزارش شده است، نه میزان مطلق آن قبل و بعد از مداخله.

بر اساس مطالعاتی که میزان بیان NCAM را در عضلات پیر بیشتر می دانند (۱۱، ۱۲)، چنانچه مقدار بیان این پروتئین در نمونه های پیر از ابتدا و پیش از عصب زدایی بیشتر از جوان ها بوده باشد، ظرفیت بسیار کمتری برای افزایش در پاسخ به عصب زدایی خواهد داشت. در نتیجه عدم تغییر معنادار پروتئین NCAM در نمونه های پیر مطالعه مورد بحث می تواند ناشی از افت عمومی ظرفیت پاسخگویی بدن به مداخلات فیزیولوژیک به خاطر افزایش سن باشد (۳۲)؛ بنابراین، برای دستیابی به نتیجه صحیح لازم است میزان مطلق بیان NCAM قبل و بعد از مداخله گزارش و مقایسه شود. یکی دیگر از دلایل اختلاف نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعه Gillon و Sheard (۱۷) می تواند ناشی از تفاوت در نوع مداخله باشد؛ چراکه مداخله حادی مانند جراحی در مقایسه با روند طبیعی پیری می تواند پاسخ های کاملاً متفاوتی را برانگیزد.

Hendrickse و همکاران (۱۲) در مطالعه خود میزان بیان NCAM را در عضله دوقلوی پای رت های پیر و جوان پس از عصب زدایی به روش جراحی، طی مطالعه ای زمان بندی شده سنجیدند. این پژوهشگران روند بیان NCAM در نمونه های پیر و جوان را متغیر و وابسته به زمان دانستند. Bahr و همکاران (۱۵) نیز تفاوتی در محتوای سیناپسی NCAM موش های پیر و جوان مشاهده نکردند. تفاوت نتایج پژوهش دو مطالعه یادشده با پژوهش حاضر می تواند ناشی از تفاوت در روند عصب زدایی، روش اندازه گیری بیان NCAM، نوع عضله و گونه حیوانی مطالعه شده باشد.

ظهور NCAM در محل پیوندگاه عصبی عضلانی هم راستا با مطالعات Aare و همکاران (۹) و Urbanchek و همکاران (۱۱) حاکی از بروز عصب زدایی محیطی است. این در حالی است که برخی مطالعات عصب زدایی ناشی از پیری را صرفاً مرکزی دانسته اند (۵). با توجه به اینکه در مطالعه حاضر بیان NCAM با استفاده از روش عینی سنجش بیان پروتئین (۲۸) سنجیده شده است، می توان با اطمینان بیشتری وجود عصب زدایی محیطی را نشان داد.

همچنین با افزایش سن، روند تخریب اعصاب محیطی در هر دو عضله کندانقباض و تندانقباض اتفاق می افتد، اما شدت این عصب زدایی در تارهای تندانقباض بیشتر از تارهای کندانقباض است.

از سویی دیگر، در مطالعه حاضر وزن عضله پلاتتاریس رت های بالغ جوان به طور معناداری بیشتر از رت های پیر است (نمودار ۱)، درحالی که این تفاوت در عضله سولتوس دو گروه غیرمعنادار است. این یافته با نتایج مطالعه حاضر در مورد وابستگی بیان NCAM به خصوصیات عضله و روند شدیدتر تخریب تارهای عضلانی تندانقباض در نتیجه افزایش سن (۳۴) همخوانی دارد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر از رساله دانشجویی دکتری دانشگاه تهران استخراج شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران تشکر و قدردانی می شود. همچنین بخشی از مراحل آزمایشی پژوهش حاضر در دانشگاه آلبرتا انجام گرفته است که نویسندگان بر خود لازم می دانند از رئیس دپارتمان نوروساینس و آزمایشگاه هیستولوژی آن دانشگاه قدردانی کنند.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، میزان بیان پروتئین NCAM در پیوندگاه عصبی عضلانی رت های پیر بیشتر از رت های جوان بوده است که حاکی از تخریب اعصاب محیطی به خاطر افزایش سن است.

References:

1. Raymond MJ, Bramley-Tzerefos RE, Jeffs KJ, Winter A, Holland AE. Systematic review of high-intensity progressive resistance strength training of the lower limb compared with other intensities of strength training in older adults. Arch Phys Med And Rehabil 2013;94(8):1458-72. PMID: 23473702
2. Chai RJ, Vukovic J, Dunlop S, Grounds MD, Shavlakadze T. Striking denervation of neuromuscular junctions without lumbar motoneuron loss in geriatric mouse muscle. PloS One 2011;6(12):e28090. PMID: 22164231
3. Deschenes MR, Roby MA, Eason MK, Harris MB. Remodeling of the neuromuscular junction precedes sarcopenia related alterations in myofibers. Exp Gerontol 2010;45(5):389-93. PMID: 20226849
4. Cristea A, Qaisar R, Edlund PK, Lindblad J, Bengtsson E, Larsson L. Effects of aging and gender on the spatial organization of nuclei in single human skeletal muscle cells. Aging Cell 2010;9(5):685-97. PMID: 20633000
5. Flood DG, Coleman PD. Neuron numbers and sizes in aging brain: comparisons of human, monkey, and rodent data. Neurobiol Aging 1988;9(5-6):453-63. PMID: 3145463
6. Rowan SL, Rygiel K, Purves-Smith FM, Solbak NM, Turnbull DM, Hepple RT. Denervation causes fiber atrophy and myosin heavy chain co-expression in senescent skeletal muscle. PloS One 2012;7(1):e29082. PMID: 22235261
7. Painter MW, Brosius Lutz AB, Cheng YC, Latremoliere A, Duong K, Miller CM, et al. Diminished Schwann cell repair responses underlie age-associated impaired axonal regeneration. Neuron 2014;83(2):331-43. PMID: 25033179
8. Michalski B, Bain JR, Fahnstock M. Long-term changes in neurotrophic factor expression in distal nerve stump following denervation and reinnervation with motor or sensory nerve. J Neurochem 2008;105(4):1244-52. PMID: 18194437
9. Aare S, Spendiff S, Vuda M, Elkrief D, Perez A, Wu Q, et al. Failed reinnervation in aging skeletal muscle. Skelet Muscle 2016;6(1):29. PMID: 27588166

10. Raper J, Mason C. Cellular strategies of axonal pathfinding. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010;2(9):a001933. PMID: 20591992
11. Urbanek MG, Picken EB, Kalliainen LK, Kuzon WM Jr. Specific force deficit in skeletal muscles of old rats is partially explained by the existence of denervated muscle fibers. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56(5):B191-7. PMID: 11320099
12. Hendrickse P, Galinska M, Hodson-Tole E, Degens H. An evaluation of common markers of muscle denervation in denervated young-adult and old rat gastrocnemius muscle. *Exp Gerontol* 2018;106:159-64. PMID: 29524469
13. Gosztonyi G, Naschold U, Grozdanovic Z, Stoltenburg-Didinger G, Gossrau R. Expression of Leu-19 (CD56, N-CAM) and nitric oxide synthase (NOS) I in denervated and reinnervated human skeletal muscle. *Microsc Res Techn* 2001;55(3):187-97. PMID: 11747094
14. Andersson AM, Olsen M, Zhernosekov D, Gaardsvoll H, Krog L, Linnemann D, et al. Age-related changes in expression of the neural cell adhesion molecule in skeletal muscle: a comparative study of newborn, adult and aged rats. *Biochem J* 1993;290(3):641-8. PMID: 8457191
15. Bahr BA, Godshall AC, Murray BA, Lynch G. Age-related changes in neural cell adhesion molecule (NCAM) isoforms in the mouse telencephalon. *Brain Res* 1993;628(1-2):286-92. PMID: 8313157
16. Larkin LM, Kuzon WM, Halter JB. Effects of age and nerve-repair grafts on reinnervation and fiber type distribution of rat medial gastrocnemius muscles. *Mech Ageing Dev* 2003;124(5):653-61. PMID: 12735905
17. Gillon A, Sheard P. Elderly mouse skeletal muscle fibres have a diminished capacity to upregulate NCAM production in response to denervation. *Biogerontology* 2015;16(6):811-23. PMID: 26385499
18. Andersson AM, Olsen M, Zhernosekov D, Gaardsvoll H, Krog L, Linnemann D, et al. Age-related changes in expression of the neural cell adhesion molecule in skeletal muscle: a comparative study of newborn, adult and aged rats. *Biochem J* 1993;290(Pt 3):641-8. PMID: 8457191
19. Janssen I, Heymsfield SB, Wang Z, Ross R. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr. *J Appl Physiol* 2000;89(1):81-8. PMID: 10904038
20. Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, Kritchevsky SB, Nevitt M, Schwartz AV, et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006;61(10):1059-64. PMID: 17077199
21. Essen-Gustavsson B, Borges O. Histochemical and metabolic characteristics of human skeletal muscle in relation to age. *Acta Physiol Scand* 1986;126(1):107-14. PMID: 3953298
22. Rowan SL, Purves-Smith FM, Solbak NM, Hepple RT. Accumulation of severely atrophic myofibers marks the acceleration of sarcopenia in slow and fast twitch muscles. *Exper Gerontol* 2011;46(8):660-9. PMID: 21513786
23. Aagaard P, Suetta C, Caserotti P, Magnusson SP, Kjær M. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure. *Scand J Med Sci Sports* 2010;20(1):49-64. PMID: 20487503
24. Bigard X, Sanchez H, Zoll J, Mateo P, Rousseau V, Veksler V, et al. Calcineurin co-regulates contractile and metabolic components of slow muscle phenotype. *J Biol Chem* 2000;275(26):19653-60. PMID: 10777482
25. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med* 2013;4(6):624-30. PMID: 23930179
26. Davis JA. Mouse and rat anesthesia and analgesia. *Curr Protoc Neurosci* 2008;42(1):A4B. PMID: 18428669
27. Sanes JR, Hall ZW. Antibodies that bind specifically to synaptic sites on muscle fiber basal lamina. *J Cell Biol* 1979;83(2 Pt 1):357-70. PMID: 91619
28. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques. New York: Elsevier Health Sciences; 2008. Link

29. Dubowitz V, Oldfors A, Sewry CA. Muscle biopsy: a practical approach: expert consult; online and print. New York: Elsevier Health Sciences; 2013. Link
30. McNeil CJ, Rice CL. Neuromuscular adaptations to healthy aging. *Appl Physiol Nutr Metab* 2018;43(11):1158-65. PMID: 29986151
31. Wang ZM, Zheng Z, Messi ML, Delbono O. Extension and magnitude of denervation in skeletal muscle from ageing mice. *J Physiol* 2005;565(3):757-64. PMID: 15890702
32. Gordon T, Hegedus J, Tam SL. Adaptive and maladaptive motor axonal sprouting in aging and motoneuron disease. *Neurol Res* 2004;26(2):174-85. PMID: 15072637
33. Drey M, Krieger B, Sieber CC, Bauer JM, Hettwer S, Bertsch T, et al. Motoneuron loss is associated with sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc* 2014;15(6):435-9. PMID: 24656689
34. Yoshimura K, Asato H, Cederna PS, Urbanchek MG, Kuzon WM. The effect of reinnervation on force production and power output in skeletal muscle. *J Surg Res* 1999;81(2):201-8. PMID: 9927541
35. Tieland M, Trouwborst I, Clark BC. Skeletal muscle performance and ageing. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2018;9(1):3-19. PMID: 29151281
36. Dunn SE, Simard AR, Bassel-Duby R, Williams RS, Michel RN. Nerve activity-dependent modulation of calcineurin signaling in adult fast and slow skeletal muscle fibers. *J Biol Chem* 2001;276(48):45243-4. PMID: 11555650