علوم زیستی ورزشی - تابستان ۱۳۹۶
دورهٔ۹، شمارهٔ ۲، ص: ۲۲۱ – ۲۰۹
تاریخ دریافت : ۰۸ / ۰۶ / ۹۵
تاریخ پذیرش : ۱۰ / ۱۲ / ۹۵

تأثیر یک دوره مکمل‌دهی عصارهٔ دارچین بر پاسخ nAChR عضلهٔ اسکلتی موش‌های صحرایی سالمند به فعالیت حاد وامانده‌ساز

فتانه فرهمند [۱] – مریم نورشاهی [*۲] - مجتبی صالح پور [۳] - ایمان فتحی [۴]

۱.دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی عصب و عضله، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران ۲. دانشیار، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران ۳.استادیار، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران ۴. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکدهٔ ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

چکیده

مصرف مکمل‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در بهبود عملکرد در دوران سالمندی اهمیت زیادی دارد. هدف این تحقیق، بررسی تأثیر یک دوره مکمل‌دهی عصارهٔ دارچین بر پاسخ گیرندهٔ نیکوتینی استیل‌کولین (nAChR)پس از یک جلسه فعالیت وامانده‌ساز در موش‌های صحرایی سالمند بود. ۳۲ سر موش سالمند نژاد ویستار به‌طور تصادفی در چهار گروه ورزش وامانده‌ساز، دارچین، دارچین– ورزش و کنترل تقسیم شدند. موش‌ها در گروه دارچین و دارچین- ورزش ۲۰۰ mg/kg/day عصارهٔ دارچین به‌مدت ۱۴ روز به‌صورت گاواژ دریافت کردند. در گروه ورزش و دارچین– ورزش، موش‌ها ابتدا با سرعت ۱۰ m/min برای گرم کردن روی تردمیل راه رفتند و سپس هر دو دقیقه، ۲ m/min به سرعت تردمیل اضافه شد تا سرعت به ۲۸ m/min رسید. پس از بیهوشی، عضلهٔ SOL و EDL در حالت استراحت، بلافاصله و چهار ساعت بعد خارج شد. از روش هموژن کردن و سپس وسترن بلات برای شناسایی تغییر متغیرها استفاده شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون تی مستقل و تحلیل واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) در سطح معناداری ($P\leq ۰/۰۵$) تجزیه‌وتحلیل شدند. نتایج پژوهش نشان داد که میزان nAChR بلافاصله و چهار ساعت بعد در عضلهٔ SOL، در همهٔ گروه‌ها به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود ($P < ۰/۰۵$). با وجود این در عضلهٔ EDL این افزایش معنادار نبود ($P\geq ۰/۰۵$). به‌نظر می‌رسد که مکمل‌دهی عصارهٔ دارچین و فعالیت استقامتی، روش مناسبی برای کاهش توسعهٔ سارکوپنیا و افزایش سنتز nAChR در افراد سالمند باشد.

واژه‌های کلیدی

سارکوپنیا، سالمندی، فعالیت وامانده‌ساز، گیرندهٔ نیکوتینی استیل کولین.

---

[*] نویسندهٔ مسئول : تلفن : ۹۸۹۱۲۶۳۰۶۳۵۸+ Email: m-nourshahi@sbu.ac.ir

مقدمه

سالخوردگی[1] ارگانیسم براساس کاهش تدریجی عملکرد تمام سیستم‌های بدن مشخص می‌شود. تغییرات مرتبط با سن در سیستم عصبی، ممکن است بر عملکرد دیگر سیستم‌های بدن و فرایندهای پیری این سیستم‌ها اثرگذار باشد. سیناپس‌ها، واحدهای عملکردی سیستم عصبی هستند و سالمندی بر عملکرد سیناپس‌ها اثر می‌گذارد (۲). سالمندی با کاهش عملکرد جایگاه عصبی- عضلانی (به‌عنوان یک سیناپس)، کاهش قدرت عضلانی، کاهش سرعت انقباض عضلانی و افزایش خستگی عضلانی ارتباط دارد و این تغییرات نیز با کاهش تودهٔ عضلانی مرتبط است (۳۱). به‌طورکلی، این کاهش تودهٔ عضلانی با سالمندی و فرایندهای سلولی و مولکولی مربوط به آن، سارکوپنیا[2] نام دارد (۲۱). فرایند سالمندی سیناپس‌های کولینرژیک، پیچیده است و ممکن است شامل مواردی همچون کاهش آزادسازی استیل کولین از سیناپس‌ها در نتیجهٔ کاهش ورود کلسیم از طریق کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ (۲۸) و همچنین کاهش تحریک‌پذیری الکتریکی غشای پلاسمایی سیناپسی در نتیجهٔ کاهش فعالیت آنزیم الکتروژنیک سدیم-پتاسیم ATPase باشد (۲۷).

تحقیقات در زمینهٔ تغییرات سیستم عصبی طی سالمندی نشان می‌دهد که سالمندی سبب کاهش تعداد تارهای عصبی میلین‌دار، قطر تارهای عصبی، تعداد واحدهای حرکتی و کاهش سرعت هدایت پیام عصبی و غیره می‌شود (۴). در این بین یکی از تغییرات مهم در دوران سالمندی، تغییر ساختاری و عملکردی جایگاه اتصال عصبی‌ـعضلانی[3] (NMJ) است؛ به‌طوری‌که کاهش عملکرد و ساختار این قسمت طی سالمندی سبب تضعیف عملکرد جسمانی می‌شود (۱۵، ۱۱). محققان نشان دادند که انتقال سیناپسی سریع و دقیق نیازمند تجمع و چگالی زیاد گیرنده‌های انتقال‌دهندهٔ پیام عصبی در غشای پس‌سیناپسی است. به همین دلیل این گیرنده‌ها باید در قسمت مقابل منطقهٔ آزادسازی ناقلان از پایانهٔ عصبی، با چگالی زیاد وجود داشته باشند. در همین زمینه، سازش‌پذیری NMJ به‌طور گسترده‌ای در مدل‌های تحریک الکتریکی، فرایند قطع عصب/ عصب‌رسانی مجدد[4] و بی‌باری عضله نشان داده شده است (۲۰). همچنین مشاهده شده است که تغییرات مرتبط با سن در مورفولوژی NMJ ممکن است در انواع عضلات اسکلتی متفاوت باشد و احتمالاً با سطوح فعالیت عضله مرتبط است (۳۰).

---

1. senescence
2. sarcopenia
3. neuromuscular junction
4. Denervation/re-innervation process

تحقیقات دربارهٔ اثر فعالیت ورزشی بر فیزیولوژی و مورفولوژی NMJ بسیار محدود است (۱۲). برخی مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی بر تعداد و توزیع گیرنده‌های استیل‌کولینی یا فعالیت‌های ویژهٔ کولین‌استیل‌ترانسفراز و استیل‌کولین‌استراز اثری ندارد (۱۹). در پژوهشی، فهیم محمد (۱۹۹۷) به بررسی اثر ورزش استقامتی (۲۸ متر بر دقیقه، ۶۰ دقیقه در روز) بر مورفولوژی NMJ عضلهٔ دوقلوی موش‌های سالمند پرداخت و نتیجه گرفت که NMJ تغییری فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی طی سالمندی متحمل می‌شود و این پلاستیسیتی ممکن است در اثر ورزش استقامتی تعدیل شود (۱۲).

در میان نظریه‌های مختلف در توضیح فرایند سالمندی نظریهٔ تولید رادیکال‌های آزاد (ROS)[1] در طول دو دههٔ گذشته بررسی شده است. پیشنهاد اولیه دربارهٔ فرایند سالمندی و ROS را هارمن مطرح کرد که به‌عنوان یک توضیح ممکن در زمینهٔ فرایند سالمندی پذیرفته شد. نظریهٔ ROS و سالمندی نشان می‌دهد که تولید ROS در سالمندان بسیار بیشتر از افراد جوان است(۱۹). تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی شدید و فرایند سالمندی سبب افزایش تولید ROS می‌شوند (۳۲). اگرچه ROS در مقادیر زیاد سبب آسیب‌های ساختاری و مرگ سلولی و در بسیاری از شرایط پاتوژنز – به‌طور ویژه تخریب نورونی[2] درگیرند (۶)، نشان داده شده است که در مقادیر کم تا متوسط برای تندرستی و داشتن نقش‌های مختلف نظارتی در سلول ضروری‌اند (۲۵).

از سوی دیگر، اظهار شده است که مکمل‌های حاوی مواد آنتی‌اکسیدانی و گیاهان دارویی هم در انسان و هم در حیوان می‌توانند آسیب ناشی از ROS به بافت‌های مختلف را کاهش دهند (۵). برخی از گیاهان دارویی به‌دلیل وجود ترکیباتی مانند پلی‌فنولیک[3] آنتی‌اکسیدان قوی به‌شمار می‌روند (۳). از جمله مواد طبیعی و در دسترس که حاوی خاصیت قوی آنتی‌اکسیدان است دارچین[4] است که چاشنی رایجی در وعده‌های غذایی مردم آسیایی است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن‌های ضروری و عصاره‌های برگ و پوست درخت دارچین در داخل بدن و در شرایط آزمایشگاهی گزارش شده است (۲۲).

تحقیقات زیادی در مورد اثرهای ورزش و رژیم غذایی در جلوگیری از کاهش عملکرد عضلانی مرتبط با سن انجام گرفته است (۱۴،۱۷) با وجود این، اطلاعات در مورد اثرهای ورزش و مکمل‌های غذایی بر NMJ محدود است (۲۹). البته تحقیقات محدودی در زمینهٔ اثرهای طولانی‌مدت ورزش بر

1. Reactive oxygen species
2. Neurodegenerative
3. Polyphenolic compounds
4. Cinnamon

جایگاه عصبی- عضلانی انجام گرفته است، با این‌حال تأثیرات یک وهله ورزش شدید بر جایگاه عصبی- عضلانی و نقش مکمل‌های غذایی آنتی‌اکسیدانی در پیشگیری از آسیب‌های ناشی از افزایش رادیکال‌های آزاد و آثار مخربشان بر جایگاه عصبی- عضلانی بررسی نشده است.

با توجه به اینکه تحقیقات نشان می‌دهند فعالیت‌های ورزشی شدید با افزایش تولید (ROS) همراه‌اند (۱۸) و به‌طور معمول دستگاه‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد به‌تنهایی نمی‌توانند با آن مقابله کنند (۱۳) و سبب تأثیرات مخرب بر NMJ می‌شود و همچنین با توجه به اینکه در سالمندی سطوح ROS افزایش می‌یابد، این مطالعه به بررسی این فرضیه می‌پردازد که آیا یک دوره مکمل‌دهی عصارهٔ دارچین (به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی) می‌تواند اثرهای مخرب رادیکال‌های آزاد ناشی از فعالیت حاد وامانده‌ساز و سالمندی بر ساختار و عملکرد جایگاه NMJ را تعدیل کند یا خیر ؟

روش تحقیق

نمونه‌ها

در این پژوهش، ۳۲ سر موش نر ویستار ۲۲ماهه با میانگین وزنی ۲۵±۳۷۵ گرم به‌عنوان نمونه از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه تهران خریداری و در شرایط دمایی ۱/۴ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت ۴ ± ۵۵ درصد و چرخهٔ روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. موش‌ها در همهٔ مراحل پژوهش به غذای مخصوص و آب آشامیدنی که در ظرف‌های مخصوص آب حیوانات وجود داشت، به‌اندازهٔ کافی و آزادانه دسترسی داشتند.

تمام حیوانات در هفتهٔ اول با شرایط زندگی در آزمایشگاه آشنا شده و سپس به چهار گروه هشت‌تایی تقسیم شدند گروه‌های پژوهش حاضر به‌شرح زیر بودند:

گروه اول فعالیت استقامتی وامانده‌ساز (n=۸)، (EX)؛ گروه دوم، دریافت مکمل دارچین (n=۸)، (CE) در هفته‌های دوم و سوم به‌مدت ۱۴ روز با دوز ۲۰۰ mg/kg/day (۶)؛ گروه سوم، دریافت مکمل دارچین به‌مدت ۱۴ روز با دوز ۲۰۰ mg/kg/day همراه با فعالیت وامانده‌ساز (n=۸)، (EX+ CE) که شامل یک جلسه فعالیت استقامتی وامانده‌ساز بود؛ گروه کنترل (بدون ورزش و بدون مکمل) (Cont)(n=۸).

پروتکل ورزشی

حیوانات به‌منظور آشنا شدن با تردمیل، ابتدا ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲- ۸ متر بر دقیقه به‌مدت سه روز دویدند. پس از پایان دورهٔ مکمل‌دهی، گروه مکمل دارچین و ورزش وامانده‌ساز و گروه ورزش وامانده‌ساز، فعالیت استقامتی روی تردمیل را انجام دادند. در روز فعالیت ورزشی، موش‌ها ابتدا ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای گرم کردن روی تردمیل راه رفتند، سپس به‌تدریج هر ۲ دقیقه، ۲ متر بر دقیقه به سرعت تردمیل اضافه شد تا به‌سرعت ثابت ۲۸ متر بر دقیقه رسید. حیوانات در این سرعت که معادل ۸۰- ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی است، تا حد واماندگی دویدند. همچنین در تمام مراحل یادشده، شیب نوارگردان صفر درجه بود (۲۴). واماندگی زمانی محسوب می‌شد که وقتی حیوانات را به پشت خواباندیم قادر به برگشت به وضعیت اولیه نبودند (۹).

تهیهٔ عصارهٔ دارچین

عصارهٔ متانولی پوستهٔ دارچین در آزمایشگاه پژوهشکدهٔ گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهیه شد. دارچین گیاه بومی هند و سریلانکاست. بنابراین پوستهٔ خشک درخت دارچین از عطاری تهیه و به‌صورت پودر درآورده شد و ۳۵۰ گرم از پودر تهیه‌شده درون یک بشر ۱۰۰۰ میلی‌لیتر ریخته و روی آن ۶۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص (به‌طوری‌که تمامی پودر را بپوشاند) اضافه شد.

نمونهٔ تهیه‌شده چندین بار به هم زده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت به همین صورت باقی ماند. بعد از ۲۴ ساعت فاز بالایی برداشته و روی باقی‌مانده ماده دوباره متانول ریخته شد و به هم زده شد. این کار به‌مدت پنج روز انجام گرفت تا عصارهٔ گیاه به‌طور کامل استخراج شد. سپس کل فازهای بالایی صاف شده و با استفاده از دستگاه روتاری حلال آن جدا شد و ۳۰ گرم عصارهٔ غلیظ و خشک به‌دست آمد (۸). عصارهٔ تهیه‌شده برای مصرف موش‌های صحرایی به‌صورت گاواژ در محلول دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) ۰/۱درصد حل شد.

نمونه‌گیری

بلافاصله و چهار ساعت پس از واماندگی، موش‌ها با تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از کتامین[1] (۵۰-۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلزین[2] (۵-۳ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شده و به‌منظور بافت‌برداری از محفظه خارج و به روی میز جراحی انتقال داده شدند. دو عضلهٔ SOL و EDL برای

1. Ketamine
2. Xylazine

اندازه‌گیری مقدار پروتئین nAChR به روش وسترن بلات (Anti- nAChR شرکت abcam) بلافاصله و چهار ساعت پس از فعالیت وامانده‌ساز برداشته شدند.

تهیه و آماده‌سازی بافت

ابتدا عضلات برای استخراج عصارهٔ سلولی (سوپرناتانت) با روش هاون‌کوبی پودر شد. سپس نمونه‌های پودرشدهٔ عضله توسط بافر هموژن (Tris-HCL ۵۰۰µL، pH= ۸، ۰/۰۰۳ گرم EDTA، ۰/۰۸ گرم NaCl، ۰/۰۲۵ گرم سدیم دی‌اکسی کلات[1]، ۰/۰۱ گرم SDS، ۱ قرص Protease inhibitor cocktail، ۱۰ میکرولیتر (NP40 (0.1%) برای به‌دست آوردن عصارهٔ سلولی لیز شد.

برای هموژن کردن بافت، به‌اندازهٔ چهار تا پنج برابر وزن نمونه‌ها بافر لیزکننده ریخته شد و با هموژنایزر تامی مدل میکرو اسمش در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت سه زمان دودقیقه‌ای با فاصلهٔ زمانی پنج‌دقیقه‌ای بین دفعات برای جلوگیری از گرم شدن و دناتوره شدن پروتئین، هموژن شد. سپس بافت هموژن‌شده به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد و در ۳۶۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت محلول جدا و در فریزر ۸۰- نگهداری شد. برای تعیین غلظت پروتئین از روش بردفورد استفاده و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت مناسب پروتئین نمونه محاسبه شد.

وسترن بلات

برای اجرای آزمایش وسترن بلات مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی‌آکریل‌آمید-SDS ٪۱۲PAGE جداسازی شد. بعد از مرحلهٔ الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شد و کاغذ به‌مدت ۱ ساعت در محلول بلاکینگ قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی‌بادی اولیه (Anti-nAChR شرکت abcam) در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت و در روز دوم سه بار با محلول TBST شست‌وشو داده شد و با آنتی‌بادی ثانویه به‌مدت یک ساعت انکوبه شد. بعد از این مرحله، بلات‌ها با کیت ECL پوشانده و با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شدند؛ سپس در بافر استریپینگ شست‌وشو داده شدند و آنتی‌بادی بتا اکتین روی کاغذ گذاشته شد و دوباره با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شدند و بتااکتین کنترل نیز در فیلم رادیولوژی ظاهر شد. توسط برنامهٔ Image J باندهای به‌دست‌آمده دانسیتومتری شدند.

تجزیه‌وتحلیل آماری

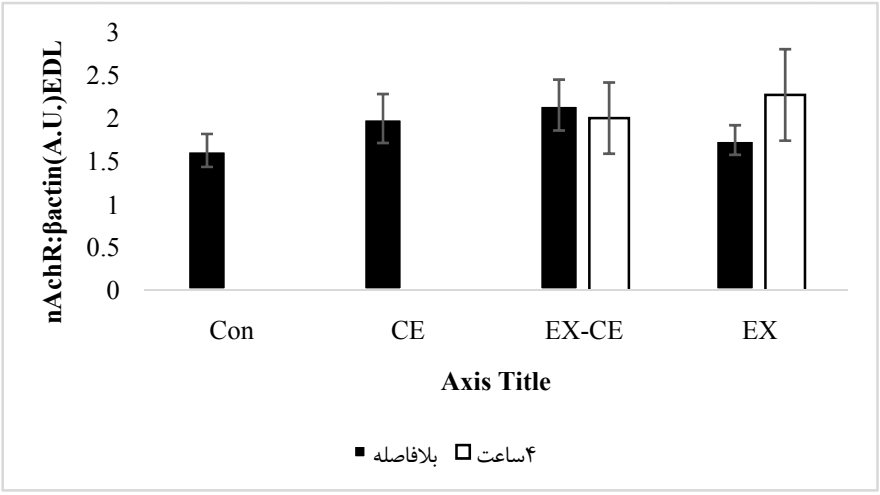
تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS باVER=16 انجام گرفت. طبیعی بودن داده‌ها

1. Sodium Deoxycholate

با استفاده از آزمون شاپیروویلک مشخص شد. برای بررسی معناداری اختلاف سطوح nAchR، بلافاصله و چهار ساعت پس از فعالیت وامانده‌ساز در چهار گروه از آزمون یکسویهٔ آنووای مستقل استفاده شد. برای مشخص شدن تفاوت معنادار بین گروه‌ها در صورت معناداری از آزمون‌های تعقیبی بانفرونی و در غیر این صورت از گیمزهاول استفاده شد. سطوح معناداری نیز ($P \leq ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

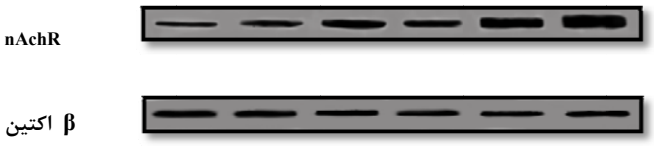
نتایج

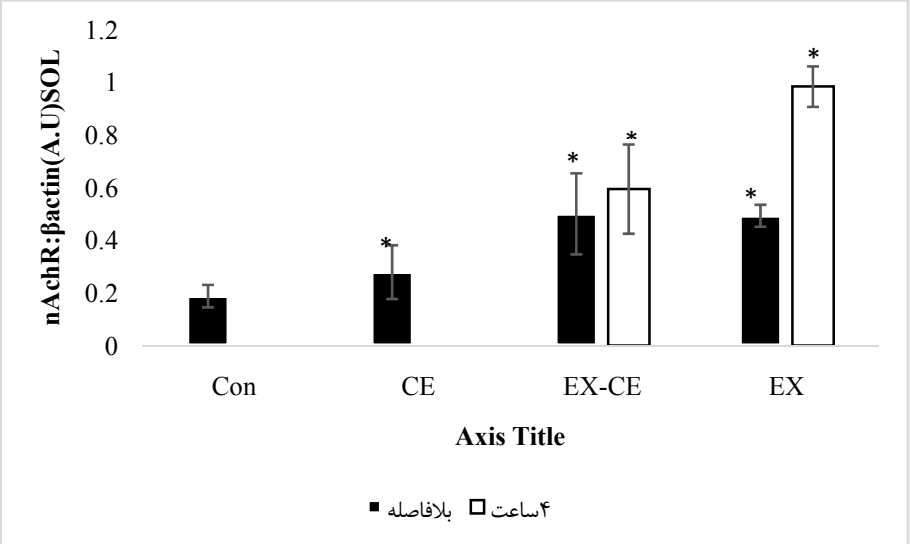
نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یکسویه نشان داد که میزان تغییرات پروتئین nAchR عضلهٔ بازکنندهٔ دراز انگشتان (EDL) در تمام گروه‌ها، بلافاصله و چهار ساعت بعد معنادار نبود ($P>۰/۰۵$) (نمودار ۱، جدول ۱).



نمودار ۱. مقادیر nAchR در عضلهٔ EDL بلافاصله و چهار ساعت پس از ورزش وامانده‌ساز در موش‌های سالمند (n=8)

نتایج تجزیه‌وتحلیل آماری در عضلهٔ EDL در گروه‌های مختلف معنادار نبود، با این حال، نتایج در مورد عضلهٔ SOL متفاوت بود. nAchR به‌طور معناداری در تمام گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت (نمودار ۲، جدول ۲).





نمودار ۲. مقادیر nAchR در عضلSOL G بلافاصله و چهار ساعت پس از ورزش وامانده‌ساز در موش‌های سالمند (n=8).* اختلاف معنادار با گروه کنترل

نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یکسویه نشان داد که تغییرات میزان پروتئین nAchR عضلهٔ نعلی (SOL) در گروه‌های مختلف معنادار بود (P<۰/۰۵) ۳۸/۶۸۶ =F۳۰،۵. نتایج آزمون تعقیبی بانفرونی نشان داد که مقدار پروتئین nAchR بین گروه کنترل با گروه‌های مکمل دارچین، دارچین - ورزش بلافاصله، ورزش بلافاصله، دارچین - ورزش چهار ساعت و ورزش چهار ساعت، در عضلهٔ نعلی تفاوت معناداری داشت؛ به‌طوری‌که در گروه‌های یادشده مقادیر nAchR نسبت به گروه کنترل بیشتر بود.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش نشان داد که تغییرات nAChR در بافت کندانقباض در همهٔ گروه‌ها، بلافاصله و چهار ساعت پس از آن در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت. براساس نظریهٔ رادیکال آزاد و سالمندی، در دوران سالمندی تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن افزایش می‌یابد (۱۰) ازاین‌رو یکی از شیوه‌های مقابله با اثرهای نامطلوب استرس اکسایشی، استفاده از مکمل‌سازی کوتاه‌مدت و بلندمدت مواد حاوی آنتی‌اکسیدان است (۷). همچنین مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که افزایش ROS سبب تأثیرات تخریبی بر ساختار NMJ، گیرندهٔ استیل‌کولین و کاهش انتقال پیام‌های عصبی می‌شود (۲۶). برای مثال، پامل و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که با نقص در آنزیم SOD1، سازوکار احتمالی افزایش رادیکال‌های آزاد ممکن است سبب تخریب نورون‌های حرکتی شود. به این منظور با ایجاد آسیب اکسیداتیو از راه تغییر در پروتئین کربونیل به‌عنوان پروتئین طناب نخاعی در گروهی شامل ۱۹ نفر از بیماران مبتلا به نورون‌های حرکتی طناب نخاعی در مقایسه با گروه کنترل بیمار و گروه کنترل، افزایش ۸۸ و ۱۱۹ درصدی در پروتئین کربونیل (به‌عنوان شاخص آسیب اکسیداتیو) دیده شد؛ در نتیجه آسیب اکسیداتیو سبب افزایش مرگ نورون‌های حرکتی و اختلال در عملکرد NMJ می‌شود (۱۶).

در تحقیق دیگری، حسن و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که مصرف آنتی‌اکسیدان ویتامین C در موش‌های دیابتی از طریق مهار اثر ROS سبب بهبود انتقال پتانسیل عمل و عملکرد عصبی در موش‌های دیابتی شد (۲۳).

در همین زمینه، اثر آنتی‌اکسیدانی دارچین در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد؛ چراکه مقدار پروتئین nAchR بین گروه کنترل با گروه مکمل دارچین و دارچین - ورزش در عضلهٔ نعلی تفاوت معناداری داشت؛ به‌طوری‌که مقادیر nAchR نسبت به گروه کنترل بیشتر بود که بیانگر این است که مصرف مکمل دارچین به‌تنهایی، بیان و سنتز پروتئین nAchR عضلهٔ نعلی را افزایش می‌دهد همچنین افزایش nAchR در گروه دارچین-ورزش به این معناست که دارچین می‌تواند اثرهای تخریبی انباشت ROS ناشی از یک وهله ورزش را تعدیل کند که در نتیجه میزان بیان و سنتز پروتئین nAchR عضلهٔSOL افزایش می‌یابد.

در تحقیق حاضر نیز یافته‌ها نشان داد که استفاده از یک دوره مکمل‌دهی دارچین سبب جلوگیری از کاهش گیرنده‌های nAchR در عضلهٔ SOL در پی یک وهله فعالیت استقامتی وامانده‌ساز در موش‌های صحرایی سالمند شد که با نتایج تحقیقات قبلی سازگار بوده و حاکی از اثر احتمالی آنتی‌اکسیدانتی

دارچین است. با این حال، این نتایج تنها در عضلهٔ نعلی دیده شد و در عضلهٔ بازکنندهٔ دراز انگشتان تفاوت معناداری بین گروه‌های تجربی با هم و با گروه کنترل مشاهده نشد. این نتیجه ممکن است ناشی از پروتکل تمرینی این تحقیق باشد؛ چراکه با توجه به اینکه درگیری عضلات تندانقباض به فایرینگ‌ریت[1] (نرخ آتش‌بار) عصبی بیشتری نیاز دارد، احتمالاً شدت فعالیت ورزشی برای فراخوانی عضلات تندانقباض، کافی نبوده است و به‌طورکلی عضلات تندانقباض (EDL) کمتر در این فعالیت ورزشی درگیر بوده‌اند و در نتیجه پاسخ‌های کلی در این عضلات کمتر بوده است. البته در این عضله، هم مقادیر nAchR گروه دارچین، دارچین - ورزش بلافاصله، ورزش بلافاصله، دارچین - ورزش چهار ساعت، و ورزش چهار ساعت، نسبت به گروه کنترل بیشتر بود، ولی معنادار نبود که این موضوع تا حدودی می‌تواند توجیه‌کنندهٔ اثرهای آنتی‌اکسیدانی دارچین باشد؛ چراکه احتمالاً دارچین مانع افزایش و تجمع زیاد ROS شد و در نتیجه اثرهای تخریبی ROS بر میزان بیان و سنتز nAchR اعمال نشد و در نهایت میزان nAchR افزایش یافت. نتیجهٔ بسیار مهم دیگر این تحقیق، افزایش مقادیر nAchR در گروه دارچین - هم در عضلهٔ نعلی و هم در عضلهٔ بازکنندهٔ دراز انگشتان- بود که این خود حاکی از این است که به‌طورکلی مصرف دارچین در افراد سالمند می‌تواند با تعدیل و کاهش ROS به حفظ ساختار و عملکرد اجزای سلولی مهمی همچون جایگاه عصبی-عضلانی کمک کند.

در پایان، این نکته مهم است که در این تحقیق اثرهای آنتی‌اکسیدانی دارچین به‌طور غیرمستقیم بررسی شده است، زیرا همان‌طور که اشاره شد یک وهله ورزش وامانده‌ساز سبب افزایش تولید ROS می‌شود که تخریب NMJ و آسیب جدی به سلول را در پی دارد (۲۱،۲۲)؛ با وجود این می‌توان گفت در این تحقیق مصرف دارچین مانع از اثرهای تخریبی یک وهله ورزش وامانده‌ساز بر اجزای مهم جایگاه NMJ در موش‌های سالمند شد و حتی مقدار پروتئین nAchR افزایش یافت که این تغییرات می‌تواند به ثبات جایگاه NMJ و تسهیل سیناپس عضلانی در سالمندان کمک کند؛ ازاین‌رو براساس تحقیق حاضر پیشنهاد می‌شود که افراد سالمند بهتر است به‌هنگام ورزش با شدت زیاد از دوره‌های مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهی نظیر دارچین استفاده کنند.

تقدیر و تشکر

از همکاری دانشکدهٔ علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی به‌دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود.

1. Firing rate

منابع و مآخذ

۱. دهقان، غلامرضا؛ ابراهیمی وسطی‌کلا، سهیلا؛ شقاقی، مهرنوش؛ جعفری، افشار؛ محمدی، مصطفی؛ بدل‌زاده، رضا؛ فلاح، سعید (۱۳۹۰). «اثر ضداکسایشی عصارهٔ پوستهٔ دارچین به‌دنبال یک جلسه ورزش درمانده‌ساز در موش‌های صحرایی نر»، مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، ش ۵، ص ۲۸.

2. Ando Susumu. (2012). "Neuronal dysfunction with aging and its amelioration". Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and biological sciences, Vol 88(6), 266.
3. Badalzadeh R, Shaghaghi M, Mohammadi M, Dehghan G, & Mohammadi Z. (2014). "The Effect of Cinnamon Extract and Long-Term Aerobic Training on Heart Function, Biochemical Alterations and lipid profile following exhaustive exercise in male rats". Adv Pharm Bull, 4(Suppl 2), 515-520.
4. Balice-Gordon RJ. (1997). »Age-related changes in neuromuscular innervation«. Muscle & nerve, Vol 20(S5), 83-87.
5. Bhupathiraju SN, Tucker KL.(2011)." Coronary heart disease prevention: nutrients, foods, and dietary patterns". Clin Chim Acta Vol 412(17-18):1493-1514.
6. Bohmann D, Ellis MC, Staszewski LM & Mlodzik M. (1994). "Drosophila Jun mediates Ras-dependent photoreceptor determination". Cell Press, Vol 78(6), 973-986 .
7. C. Leeuwenburgh, and J. W. Heinecke(2001). "Oxidative Stress and Antioxidants in Exercise". Current Medicinal Chemistry , 8, 829-838.
8. Dehghan G, Shafiee A, Ghahremani MH, Ardestani SK & Abdollahi, M. (2007). »Antioxidant potential of various extracts from Ferula szovitsiana. in relation to their phenolic content«. Pharmaceutical Biology, Vol 45(9), 691-699.
9. De Oliveira SL, Diniz DB & Amaya-Farfan, J. (2003). "Carbohydrate–energy restriction may protect the rat brain against oxidative damage and improve physical performance". British journal of nutrition, Vol 89(01), 89-96.
10. Domenico Fusco,1 Giuseppe Colloca,1 Maria Rita Lo Monaco, and Matteo Cesari (2007). "Effects of antioxidant supplementation on the agin process". Clinical Interv Aging. Sep 2007; 2(3): 377–387.
11. Edström E, Altun M, Bergman E, Johnson H, Kullberg S, Ramírez-León V, & Ulfhake B. (2007). "Factors contributing to neuromuscular impairment and sarcopenia during aging". Physiology & Behavior, Vol 92(1), 129-135.
12. Fahim MA.(1997)."Endurance exercise modulates neuromuscular junction of C57BL/6NNia aging mice". Journal of applied physiology, Vol 83(1), 59-66.
13. Helgerud J, Hoydal K, Wang E, Karlsen T, Berg P, Bjerkaas M & Hoff J. (2007). "Aerobic High-Intensity Intervals Improve VO2max More Than Moderate Training". Medicine and science in sports and exercise.Vol 39(4), 665-671

14. .Hepple RT, Baker DJ, Kaczor JJ, Krause DJ. (2005). "Long-term caloric restriction abrogates the age-related decline in skeletal muscle aerobic function". FASEB Journal 19: 1320 –1322.
15. JangYC, &Van Remmen H. (2011). "Age-associated alterations of the neuromuscular junction". Experimental gerontology, Vol 46(2), 193-198.
16. J. Shaw Pamela, G. Ince Paul, Gavin Falkous MPhil and David Mantle. "Oxidative damage to protein in sporadic motor neuron disease spinal cord" (2004), Volume 38, Issue 4, pages 691–695
17. Kim JH, Kwak HB, Leeuwenburgh C, Lawler JM. (2008). "Lifelong exercise and mild (8%) caloric restriction attenuate age-induced alterations in plantaris muscle morphology, oxidative stress and IGF-1 in the Fischer-344 rat".Experimental gerontology Vol 43:317–329.
18. Kim HT. (2005). "Effect of the joint administration of selenium and vitamin E in combination with regular aerobic exercise on markers of lipid peroxidation and glutathione peroxidase in diabetic rats". International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, Vol 15(3), 266-278.
19. Kovanen V & Suominen H. (1987). »Effects of age and life-time physical training on fibre composition of slow and fast skeletal muscle in rats«. Pflügers Archiv Europian journal of Physiology, Vol 408(6), 543-551.
20. Krause Neto W, & Gama EF. (2013). "The process of aging and neuromuscular junction morphology of limb muscles: a systematic review". J. Morphol, Vol 30(4), 213-218.
21. Lang T, Streeper T, Cawthon P, Baldwin K, Taaffe, DR, & Harris TB.(2010). "Sarcopenia: Etiology, clinical consequences, intervention, and assessment". Osteoporosis International, Vol 21(4), 543-559.
22. Lee JS, Jeon SM, Park EM, Huh TL, Kwon OS, Lee MK, et al.(2003). "Cinnamate supplementation enhances hepatic lipid metabolism and antioxidant defense systems in high cholesterol-fed rats". Journal Medicinal Food. Vol 6(3):183-91.
23. M. Y. Hasan, W. B. Alshuaib, nd M. A. Fahim (2002)."The impact of vitamin C on diabetes induced alterations at murine neuromuscular junction"Endocrine research , 28(1&2), 49–59.
24. .Naito H, Powers SK, Demirel HA & Aoki J. (2001). "Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats". Medicine and science in sports and exercise, Vol 33(5), 729-734.
25. Pollari E, Goldsteins G, Bart G, Koistinaho J & Giniatullin R. (2014). "The role of oxidative stress in degeneration of the neuromuscular junction in amyotrophic lateral sclerosis".Journal Frontiers in cellular neuroscience, Vol 8, 1-8
26. Suresh S. Pitchumoni, and P. Murali Doraiswamy. (1998)."Current Status of Antioxidant Therapy for Alzheimer's Disease" Journal American Geriatrics Society Issue 12 Pages 1566–1572, Volume 46.
27. TanakaY and Ando S. (1992) "Age-related changes in [3H] ouabain binding to synaptic plasma membranes isolated from mouse brains". Journal Biochem.Vol 112, 117 –121.

28. TanakaY, Hasegawa A and Ando S. (1996) "Impaired synaptic functions with aging as characterized by decreased calcium in fl ux and acetylcholine release". Journal Neurosci Research. Vol 43 ,63– 70.
29. Valdez, G, Tapia, JC, Kang, H., Clemenson, G. D., Gage, F. H., Lichtman, J. W., & Sanes, J. R. (2010). "Attenuation of age-related changes in mouse neuromuscular synapses by caloric restriction and exercise". Proceedings of the National Academy of Sciences, Vol 107(33), 14863-14868.
30. Valdez G, Tapia JC, Lichtman JW, Fox MA, & Sanes JR. (2012). "Shared resistance to aging and ALS in neuromuscular junctions of specific muscles". Vol 7(4), e34640, 1-10.
31. Vandervoort AA. (2002). "Aging of the human neuromuscular system". Muscle & Nerve, Vol 25(1), 17-25 .
32. Vieira HL, Alves PM & Vercelli A. (2011). "Modulation of neuronal stem cell differentiation by hypoxia and reactive oxygen species". Progress in neurobiology, Vol 93(3), 444-455.

The Effect of Cinnamon Extract Supplementation on nAChR Response of Skeletal Muscle in Old Rats to Exhaustive Acute Exercise

Fataneh Farahmand[1] - Maryam Nourshahi[2*] - Mojtaba Salehpour[3] - Iman Fathi[4]
1.PhD Student in Neuromuscular Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran 2.Associate Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran 3.Assistant Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Teacher Training Shahid Rajaee University, Tehran, Iran 4.Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Literature and Humanities, Vali-E-Asar University, Rafsanjan, Iran
(Received: 2016/8/29;Accepted: 2017/2/28)

Abstract
Supplements containing antioxidants play an important role in improving performance in the elderly. The aim of this study was to investigate the effect of cinnamon extract supplementation on nicotine acetylcholine receptor (nAChR) after one session of exhaustive exercise in old rats. 32 aged Wistar rats were randomly divided into four groups: exhaustive exercise, cinnamon extract, cinnamon extract and exhaustive exercise and control. Cinnamon extract and cinnamon extract and exhaustive exercise groups received 200 mg/kg/day of cinnamon extract by intra gastric intubation for 14 days. Exhaustive exercise and cinnamon extract and exhaustive exercise groups firstly ran on a treadmill at the speed of 10 m/min. for warm-up. Then, speed increased by 2 m/min. every 2 minutes to reach 28 m/min. The rats were anesthetized and their SOL and EDL muscles were removed at rest, immediately and after 4 hours. The homogenized and western blot methods were used to identify the changes in variables. Data were analyzed by independent t test and one-way analysis of variance (ANOVA) at the significance level ($P\leq0.05$). Results showed that nAChR was significantly higher immediately and after 4 hours in SOL muscle in all groups than the control group ($P<0.05$). However, this increase was not significant in EDL muscle ($P\geq0.05$). It seems that cinnamon extract supplementation and endurance exercise might be an appropriate approach to decrease the development of sarcopenia and to increase nAChR synthesis in the elderly.

Keywords
aging, exhaustive exercise, nicotinic acetylcholine receptor, sarcopenia.

* Corresponding Author: Email: m-nourshahi@sbu.ac.ir;Tel: +989126306358