

بررسی تغییرات مورفولوژیک تارهای عضلانی و پایانه‌های عصبی نورون حرکتی موش‌های صحرائی نر از کودکی تا پیری

محمد مهدی باقرپور طبالوندانی^۱، محمدرضا فدائی چافی^{*}، علیرضا علمیه^۱

مقاله پژوهشی

مقدمه: هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر گذر زمان و سن بر تغییرات مورفولوژیک موش‌های صحرائی نر بود.

روش بررسی: برای انجام این مطالعه تجربی، ۱۵ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار در سه رده سنی ۲ هفته‌ای (۱۵۰ - ۱۰۰ گرم)، ۶ هفته‌ای (۲۵۰ - ۲۲۰ گرم) و ۹۶ هفته‌ای (۳۲۰ - ۲۸۰ گرم) به مدت شش هفته در آزمایشگاه بافت و ژن پاسارگاد تهران نگهداری شدند و ۴۸ ساعت پس از آن قربانی و عضله نعلی استخراج گردید. اندازه‌گیری سطح مقطع و تعداد تارهای عضلانی توسط میکروسکوپ نوری انجام گرفت. به منظور اندازه‌گیری پروتئین‌های sema3a و NCAM تارهای عضلانی، از روش ایمنونوهیستوشیمیایی استفاده شد. برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه با آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم افزار Prism5 انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌دار در سطح مقطع تارهای عضلانی بین رده سنی کودک و جوان ($p=0.01$)، کودک و سالمند ($p=0.049$) و جوان و سالمند ($p=0.049$) وجود دارد. هم‌چنین کاهش معنی‌دار در تعداد تارهای عضلانی در رده سنی سالمند نسبت به کودک ($p=0.012$) و سالمند به جوان ($p=0.001$) وجود داشت. و بیان پروتئین sema3a با گذر زمان بین رده های سنی کودک و جوان ($p=0.048$)، کودک و سالمند ($P=0.0001$) و جوان و سالمند ($P=0.0001$) افزایش معنی‌داری داشت. و نیز بیان پروتئین NCAM با توجه به گذر زمان در سه رده سنی کودک و جوان ($p=0.048$)، کودک و کنترل ($p=0.0001$) و جوان و سالمند ($p=0.001$) کاهش معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که با افزایش رشد از کودکی به جوانی هایپرتروفی افزایش و در سالمندی کاهش می‌یابد. و روند هایپرپلازی با افزایش سن کاهش خواهد داشت. و هم‌چنین پروتئین‌های درگیر در رشد آکسونی بر اثر رشد، کاهش و پروتئین‌های تخریب کننده اعصاب نیز افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: هایپرتروفی، هایپرپلازی، sema3a، NCAM

ارجاع: باقرپور طبالوندانی محمد مهدی، فدائی چافی محمدرضا، علمیه علیرضا. بررسی تغییرات مورفولوژیک تارهای عضلانی و پایانه‌های عصبی نورون حرکتی موش‌های صحرائی نر از کودکی تا پیری. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۱؛ ۳۰ (۵): ۴۸۵۱-۶۰.

۱ - گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۱۲۳۴۶۹۵۶، پست الکترونیکی: mfadaei2000@yahoo.com، صندوق پستی: ۴۱۴۷۶۵۴۹۱۹

مقدمه

پس از تولد تا حدود ۱۸ سالگی، دوران تحرک فرایندهای بیولوژیکی برای رسیدن به بلوغ و وضعیت بزرگسالی است. در این دوران، رشد عضلانی با هایپرتروفی و تا حدودی هایپرپلازی در گونه انسان همراه است در این محدوده زمانی، همراه با رشد پیکری، آهنگ تغییرات به سمت بالیدگی نیز دارای اهمیت می‌باشد (۱). با این حال در نمونه‌های حیوانی دوران رشد علاوه بر هایپرتروفی با هایپرپلازی عضلانی همراه است (۲). پس از ورود به مرحله جوانی و میانسالی تغییرات چندانی در رشد سیستم عضلانی رخ نمی‌دهد. مگر اینکه انسان با تغییرات مربوط به سلامتی، تغذیه و فعالیت بدنی مواجه شود که هایپرتروفی یا آتروفی عضلانی از پیامدهای آن خواهد بود که خود دلالت بر پویایی بافت عضلانی دارد (۳). پس از میانسالی، سالمندی آخرین مرحله از زندگی است که در آن تغییرات به سمت رشد منفی پیش می‌رود. یکی از اختلالات مهم و شایع سالمندان، آتروفی عضلانی وابسته به سن است که با کاهش چشمگیر در توانایی تولید نیرو و کاهش حجم توده عضلانی همراه است (۴). به طور کلی، کاهش فعالیت‌های جسمانی (سبک زندگی بی‌تحرک)، تغییر در عملکرد غدد درون‌ریز، کاهش عملکرد عصبی عضلانی، تغییر در متابولیسم پروتئین (عدم تعادل بین سنتز پروتئین در مقابل تجزیه پروتئین)، تغذیه (به‌ویژه اسیدهای آمینه)، آپوپتوز و بیماری‌ها یا آسیب منجر به آتروفی عضلات می‌گردد (۵). در مطالعه فلیپس و همکاران (۲۰۱۷) نشان داده شد بین سن و رشد عضلات سه گروه جوان، میانسالی و سالمند رابطه منفی وجود دارد (۶). دیشن و همکاران (۲۰۱۱) با هدف بررسی اثر پیری بر سازگاری پیوندگاه عصبی عضلانی NMJ به تمرینات استقامتی انجام شد نشان دادند که تغییرات در NMJ و از بین رفتن عصب در تارهای عضلانی قبل از آتروفی عضلانی اتفاق می‌افتد (۷). همراه با رشد عضلات، بخش حرکتی سیستم عصبی هم دستخوش تغییرات می‌شود (۸). حفظ مناسب عملکرد سیناپسی تحت تاثیر تغییرات محیط اطراف سیناپس است. این تغییرات از سازماندهی موضعی استحکام سیناپسی تا

سازماندهی گسترده پایانه‌های آکسونی متغیر است (۹). در همین راستا نشان داده شده است که دسته‌ای از نشانگان هدایت آکسونی به نام سمافورین‌ها که از پایانه‌های آکسونی بیان می‌شوند، می‌تواند بر انسجام پیوندگاه عصبی - عضلانی (NMJ) اثرگذار باشد (۱۰، ۱۱). Sema3a یکی از اعضای این خانواده است که می‌تواند موجب دفع آکسون از بافت عضلانی گردد (۱۱، ۱۲). از دیگر عوامل مهم درگیر در رشد آکسونی، مولکول‌های چسبان عصبی هستند که NCAM نامیده می‌شوند. این مولکول‌ها تنها در سلول‌های عصبی بیان می‌شوند (۱۳). به نظر می‌رسد که کاهش NCAM یکی از فاکتورهای دخیل در نارسایی‌های عصبی - عضلانی به شمار می‌رود (۱۴). در مطالعه‌ای با هدف بررسی تاثیر تمرین بر مورفولوژی پیوندگاه عصبی - عضلانی در موش‌های جوان و پیر انجام شد، نشان داده شد که پیری تاثیر عمده‌ای بر پیوندگاه عصبی عضلانی عضله پلانتاریس و EDL نداشت ولی آتروفی چشمگیری در هر دو عضله بر اثر پیری مشاهده شد (۱۵). در تحقیق دیگری قدیری و همکاران (۲۰۱۷) نشان داده شده است که با افزایش سن موش‌های سالمند، بیان ژن sema3a در عضله بازکننده طویل انگشتان پا افزایش یافت (۱۶). طیپی و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی که به بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید بر سطح مقطع تارهای عضلانی و بیان ژن تخریب‌کننده عضلات در عضله پلانتاریس موش‌های سالمند نشان دادند که افزایش سن، NCAM را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد (۱۷). اما تا به امروز نقش گذر زمان و سن بر تغییرات عصبی عضلانی از کودکی تا پیری نپرداخته است. بنا براین پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر گذر زمان و سن بر تغییرات مورفولوژیک موش‌های صحرائی نر انجام شده است.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. ۱۵ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار در سه رده سنی ۲ هفته‌ای (۱۵۰ - ۱۰۰ گرم)، ۶ هفته‌ای (۲۵۰ - ۲۲۰ گرم) و ۹۶ هفته‌ای (۳۲۰ - ۲۸۰ گرم) در محیطی با دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری

شد و روی نمونه PBS ریخته شد. در مرحله آخر نمونه توسط میکروسکوپ فلوروسنت مدل Olympus و با لنز ۴۰۰ برای تایید مارکرها مشاهده شدند (Commented m4, m5). به منظور اندازه‌گیری سطح مقطع عرضی تارهای عضلانی، نمونه‌های عضلانی که در فرمالین ۱۰٪ فیکس شده بودند، در پارافین قالب‌گیری شده و سپس به قطعاتی با ضخامت ۵ میکرومتر برش داده شدند و با هماتوکسیلین Hematoxylin و ائوزین Eosin (H&E) رنگ آمیزی شدند. عکس برداری فتو میوگرافی با استفاده از میکروسکوپ نوری طیف عادی Olympus DP72 با بزرگنمایی ۴۰۰X با دوربین دیجیتال (Olympus, Tokyo, Japan) انجام شد. پس از عکس‌برداری، اندازه‌گیری سطح مقطع تار عضلانی با استفاده از نرم افزار دی جی مایزر (Digimizer v4.1.1.0, medcalc software) انجام شد. به طور میانگین ۲۰۰-۱۵۰ تار عضلانی از هر عضله برای مشخص کردن اندازه سطح مقطع عرضی، تجزیه و تحلیل شد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری نیز $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم افزار Prism 5 انجام گرفت (Commented m5).

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش در آزمایشگاه موسسه بافت و ژنتیک پاسارگاد تهران و با نظارت اساتید فیزیولوژی و متخصصین آزمایشگاهی و نیز با رعایت کلیه اصول اخلاقی انجام شد. شایان ذکر است که کلیه اصول اخلاقی پژوهش حاضر مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت با کد اخلاق IR.IAU.RASHT.REC.1399.029 تایید گردید.

نتایج

ویژگی موش‌ها در رده‌های سنی کودک، جوان و سالمند در جدول ۱ نشان داده شده است. تغییرات سطح مقطع عضلانی در نمودار ۱. نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن است که

شدند. در طی پژوهش غذای استاندارد پلت و آب به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت. ۴۸ ساعت پس از ۶ هفته موش‌ها با استفاده از گاز CO2 بیهوش و کشته شدند و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت خلفی ساق پای آن‌ها، عضله نعلی (۱۷) (commented m1) استخراج گردید عضله پای راست بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و سپس جهت انجام آزمایشات سلولی و مولکولی در یخچال ۸۰- نگهداری شد. و عضله پای چپ برای انجام آزمایشات هیستوشیمیایی در فرمالین ۱۰ درصد تا انجام قالب‌گیری در دمای اتاق نگهداری شد. به منظور بررسی بیان پروتئین‌های sema3a و NCAM (commented m2) از روش ایمونوهیستوشیمیایی با استفاده از آنتی‌بادی‌های ASC, NLRP3 و Caspase-1 (commented m4) در عضله و محل اتصال عصبی - عضلانی استفاده گردید. ابتدا ناحیه پیوندگاه عصبی عضلانی رنگ آمیزی شد. نمونه‌ها با سالین بافر فسفات (PBS) در ۴ مرحله و به فاصله ۵ دقیقه شسته شدند. به منظور باز یابی آنتی ژنی بر روی نمونه‌ها اسیدکلریدریک ۲ نرمال به مدت ۳۰ دقیقه ریخته شد. بافر بورات به منظور خنثی سازی اسید به مدت ۵ دقیقه اضافه گردید. سلول‌ها با PBS شسته شدند. تریتون ۰/۳ درصد به مدت ۳۰ دقیقه به منظور نفوذپذیر کردن غشاء سلول‌ها استفاده گردید. با PBS شستشو داده شدند. سرم بز ۱۰ درصد برای مدت ۳۰ دقیقه به منظور بلوک کردن واکنش آنتی‌بادی ثانویه به صورت رنگ اضافی زمینه اضافه شد. آنتی‌بادی اولیه رقیق شده (۱ به ۱۰۰) با PBS به نمونه اضافه گردید و بعد از ایجاد یک محیط مرطوب برای جلوگیری از خشک شدن بافت به مدت یک شب درون یخچال با دمای ۲ تا ۸ درجه قرار داده شد. روز بعد ظرف حاوی بافت از یخچال خارج شد و سپس ۴ بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه با PBS شستشو داده شدند. به نمونه آنتی‌بادی ثانویه با رقت ۱ به ۱۵۰ اضافه گردید و سپس در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شدند. بعد از آن نمونه از انکوباتور به اتاق تاریک منتقل گردید و بعد از ۴ بار شستشو، به آن‌ها DAPI اضافه گردید، بلافاصله برداشته

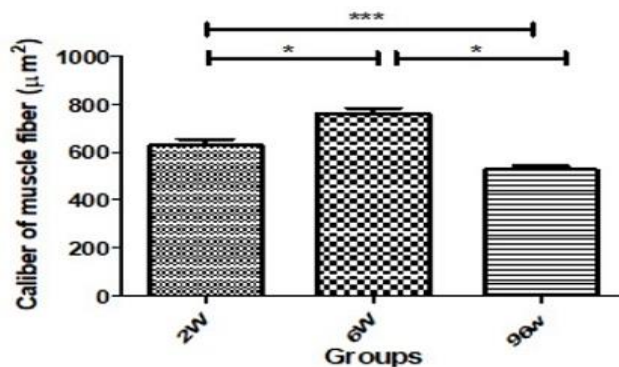
به گذر زمان بین کودک و جوان ($p=0/048$)، کودک و سالمند ($P=0/0001$) و جوان و سالمند ($P=0/0001$) افزایش معنی‌داری وجود دارد (Commented m7). هم‌چنین نتایج پژوهش نشان داد که بیان پروتئین NCAM با توجه به گذر زمان در سه رده سنی کودک و جوان ($p=0/048$)، کودک و کنترل ($p=0/0001$) و جوان و سالمند ($p=0/0001$) کاهش معنی‌دار داشت.

در سطح مقطع تارهای عضلانی بین کودک و جوان ($p=0/01$)، کودک و سالمند ($p=0/049$) و جوان و سالمند ($p=0/049$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد (Commented m7). تغییرات مربوط به هایپرپلازی عضلانی در نمودار ۲. نشان داده شده است. نتایج نشان داد که کاهش معنی‌دار تعداد تارهای عضلانی در رده سنی سالمند نسبت به رده سنی کودک ($p=0/012$) و سالمند نسبت به جوان ($p=0/001$) وجود دارد. همانگونه که در نمودار ۳. نشان داده شده است، بیان پروتئین sema3a با توجه

جدول ۱: مقادیر وزن در گروه‌های پژوهش

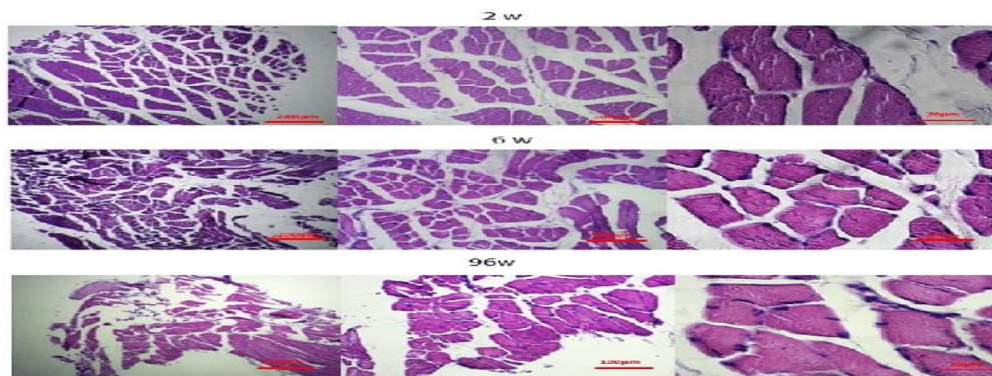
وزن پس آزمون (g) (انحراف معیار ± میانگین)	وزن پیش آزمون (g) (انحراف معیار ± میانگین)	رده سنی
* $198/6 \pm 16/5$	$29/4 \pm 2/3$	کودک
* $244/8 \pm 17$	$155/2 \pm 5/7$	جوان
$334 \pm 21/9$	$325 \pm 24/6$	سالمند

*: تفاوت معنی‌دار نسبت به پیش آزمون

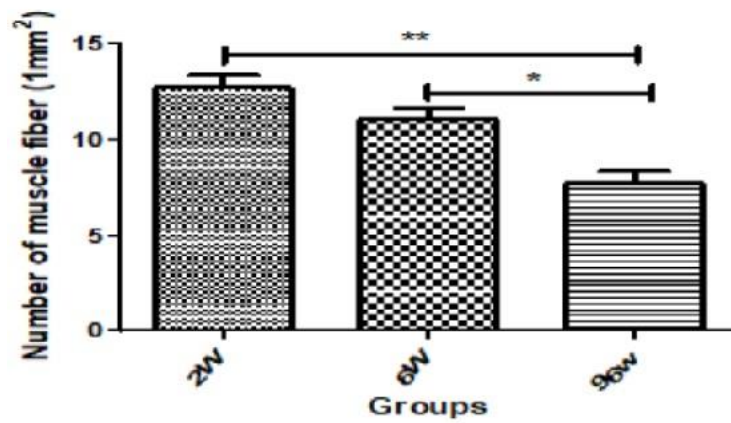


نمودار ۱: هایپرترافی عضلانی گروه‌های پژوهش. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند.

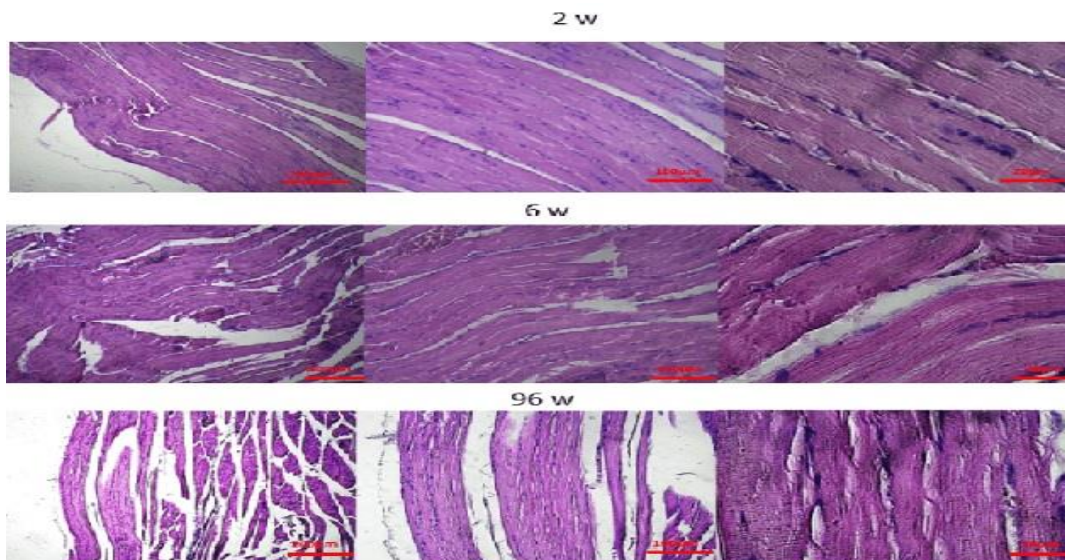
سطح معنی‌داری ($p \leq 0/05$) در نظر گرفته شده است. Week: هفته. *: تفاوت معنی‌دار



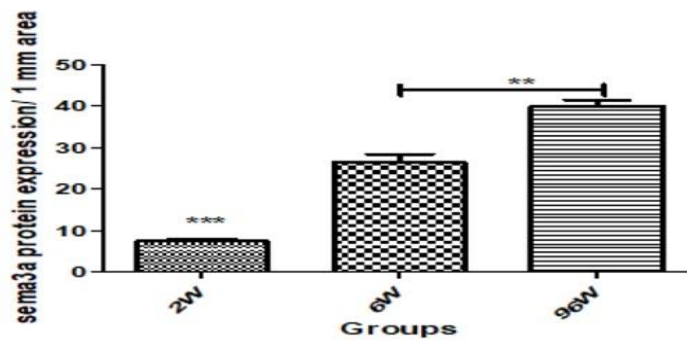
شکل ۱: تغییرات سطح مقطع تارهای عضله نعلی در رده‌های سنی مختلف با بزرگنمایی ۲۰۰، ۱۰۰ و ۲۰ میکرومتر (Commented m8, m9)



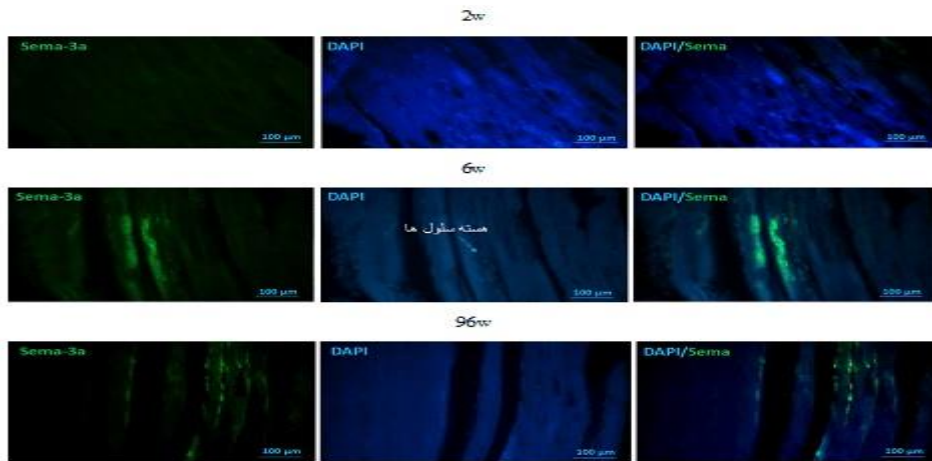
نمودار ۲: هایپرپلازی عضلانی گروه‌های پژوهش. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. سطح معنی‌داری ($p \leq 0.05$) در نظر گرفته شده است. Week: هفته. *: تفاوت معنی‌دار



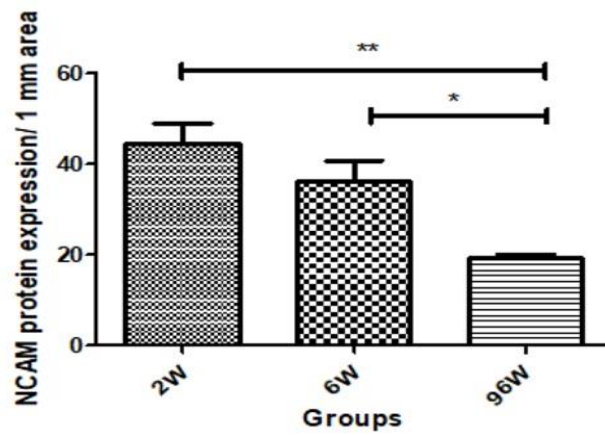
شکل ۲: تغییرات تعداد تارهای عضله نخاعی در رده‌های سنی مختلف با بزرگنمایی ۲۰۰، ۱۰۰ و ۲۰ میکرومتر (Commented m8, m9)



نمودار ۳: بیان پروتئین sema3a گروه‌های پژوهش. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. سطح معنی‌داری ($p \leq 0.05$) در نظر گرفته شده است. Week: هفته. *: تفاوت معنی‌دار

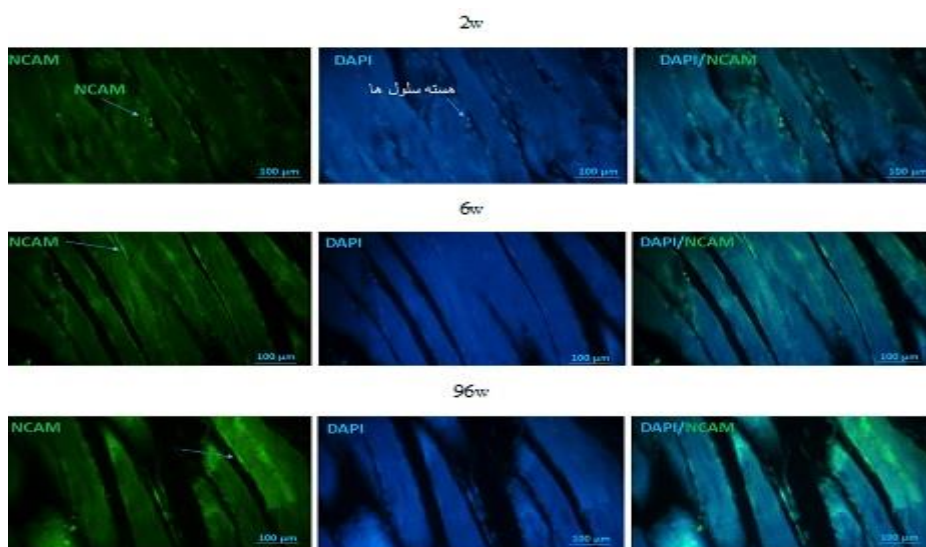


شکل ۳: بیان پروتئین sema3a تارهای عضله نعلی در رده‌های سنی مختلف



نمودار ۴: بیان پروتئین NCAM گروه‌های پژوهش. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند.

سطح معنی‌داری ($p \leq 0.05$) در نظر گرفته شده است. Week: هفته. *: تفاوت معنی‌دار



شکل ۴: بیان پروتئین NCAM تارهای عضله نعلی در رده‌های سنی مختلف

بحث

عصبی و آسیب‌های اعصاب محیطی، به‌ویژه در تارهای عضلانی تند انقباض باعث تخریب نورون‌های حرکتی می‌گردد (۱۰). از دیگر یافته‌های پژوهش حاضر کاهش چشمگیر بیان پروتئین NCAM بر اثر فرایند رشد و افزایش سن بود. در همین راستا مطالعات پیشین نشان داده‌اند که افزایش سن، NCAM را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد (۱۷). به همین جهت به نظر می‌رسد که کاهش پروتئین NCAM می‌تواند موجب نارسایی‌های عصبی عضلانی گردد (۱۴).

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بر اثر فرایند رشد از دوران کودکی به جوانی افزایش هایپرتروفی عضلانی اتفاق می‌افتد و این روند در گذر از جوانی به سالمندی به سمت منفی پیش رفته و کاهش هایپرتروفی اتفاق می‌افتد. با توجه به افزایش سن روند کاهشی در هایپرپلازی عضلانی اتفاق می‌افتد که این روند کاهشی در مرحله سالمندی قابل ملاحظه است. همچنین پروتئین‌های درگیر در رشد آکسونی بر اثر رشد و افزایش سن از دوران کودکی به جوانی و سالمندی کاهش و پروتئین‌های تخریب کننده اعصاب و نارسایی‌های عصبی، افزایش می‌یابد.

سپاس‌گزاری

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از مدیریت و پرسنل محترم موسسه دانش‌بنیان بافت و ژنتیک پاسارگاد صمیمانه تشکر و قدردانی کنند. همچنین مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت می‌باشد.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

عضلات و عملکرد فیزیولوژیکی آن از لحاظ کمی و کیفی در مراحل مختلف زندگی دستخوش تغییرات زیادی می‌شود. که این تغییرات با توجه به فرایند رشد با افزایش سن، وضعیت سلامتی افراد و فعالیت بدنی متفاوت است (۳). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پس از گذشت ۶ هفته موش‌های صحرایی نر جوان افزایش معنی‌داری در هایپرتروفی عضلانی نسبت به موش‌های کودک از خود نشان دادند. این در حالیست که در رده سنی سالمند نسبت به هر دو رده کودک و جوان کاهش معنی‌دار در هایپرتروفی عضلانی مشاهده گردید. مطالعات نشان داده‌اند که عملکرد و توده عضلانی با افزایش سن تا دوره جوانی افزایش، سپس تا دوره سالمندی به‌طور ناهمگن کاهش می‌یابد (۱۸). در همین راستا نشان داده شده است که آتروفی عضلانی زودتر از آن که قبلاً شناخته شده بود یعنی سنین ۵۰ تا ۶۰ سالگی رخ می‌دهد (۶). در خصوص افزایش تعداد تارهای عضلانی در پژوهش حاضر بین رده‌های کودک و جوان تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اما در رده سالمند نسبت به دو رده کودک و جوان همانند هایپرتروفی عضلانی، کاهش چشمگیری در تعداد تارهای عضلانی مشاهده شد. بر اساس یافته‌های پیشین شواهد قطعی هایپرپلازی در بزرگسالان وجود ندارد (۱۹-۲۱). اما شواهد محدودی از هایپرپلازی در گسترش میوفیبرهای عضلانی نمونه‌های حیوانی گزارش شده است (۲۲). از این‌رو نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزایش سن با افزایش معنی‌دار در بیان پروتئین sema3a عضله نعلی همراه می‌باشد. نتایج به‌دست آمده همسو با مطالعاتی است که نشان داده‌اند تخریب NMJ و نورون‌های حرکتی با پیری افزایش می‌یابد (۲۳). Sema3a یک پروتئین دفع‌کننده عصب است که در وضعیت‌های مختلف از قبیل بیماری‌های تخریب‌کننده

References:

- 1-Brinkmann AO. *Molecular Mechanisms of Androgen Action—A Historical Perspective*. Androgen Action 2011; 3-24.
- 2-Kato H, Shibahara T, Rahman N, Takakura H, Ohira Y, Izawa T. *Effect of a 9-Week Exercise Training Regimen on Expression of Developmental Genes Related to Growth-Dependent Fat Expansion in Juvenile Rats*. Physiological Reports 2018; 6(19): E13880.
- 3-Francaux M, Deldicque L. *Exercise and the Control of Muscle Mass in Human*. Pflügers Archiv-Eur J Physiol 2019; 471(3): 397-411.
- 4-Sakuma K, Yamaguchi A. *Sarcopenia and Age-Related Endocrine Function*. International J Endocrinology 2012; 2012.
- 5-Tesch P, Ekberg A, Lindquist D, Trieschmann J. *Muscle Hypertrophy Following 5-Week Resistance Training Using a Non-Gravity-Dependent Exercise System*. Acta Physiologica Scandinavica 2004; 180(1): 89-98.
- 6-Phillips BE, Williams JP, Greenhaff PL, Smith K, Atherton PJ. *Physiological Adaptations to Resistance Exercise as a Function of Age*. JCI Insight 2017; 2(17).
- 7-Deschenes MR, Roby MA, Glass EK. *Aging Influences Adaptations of the Neuromuscular Junction to Endurance Training*. Neuroscience 2011; 190: 56-66.
- 8-Bhasin S. *Regulation of Body Composition by Androgens*. Journal of Endocrinological Investigation 2003; 26(9): 814-22.
- 9- Son Y-J, Thompson WJ. *Nerve Sprouting in Muscle is Induced and Guided by Processes Extended by Schwann Cells*. Neuron 1995; 14(1): 133-41.
- 10- De Winter F, Vo T, Stam FJ, Wisman LA, Bär PR, Niclou SP, et al. *The Expression of the Chemorepellent Semaphorin 3A is Selectively Induced in Terminal Schwann Cells of a Subset of Neuromuscular Synapses that Display Limited Anatomical Plasticity and Enhanced Vulnerability in Motor Neuron Disease*. Molecular and Cellular Neuroscience 2006; 32(1-2): 102-17.
- 11- Venkova K, Christov A, Kamaluddin Z, Kobalka P, Siddiqui S, Hensley K. *Semaphorin 3A Signaling Through Neuropilin-1 is an Early Trigger for Distal Axonopathy in the SOD1G93A Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis*. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology 2014; 73(7): 702-13.
- 12- Vo TT. *Studies on Semaphorin 3A in the Neuromuscular Junction and in Perineuronal Nets*: Vrije Universiteit; 2011.
- 13- Franz CK, Rutishauser U, Rafuse VF. *Intrinsic Neuronal Properties Control Selective Targeting of Regenerating Motoneurons*. Brain 2008; 131(6): 1492-505.
- 14- Caldow MK, Thomas EE, Dale MJ, Tomkinson GR, Buckley JD, Cameron-Smith D. *Early Myogenic Responses to Acute Exercise Before and after Resistance Training in Young Men*. Physiological Reports 2015; 3(9): E12511.
- 15- Deschenes MR, Kressin KA, Garratt RN, Leathrum CM, Shaffrey EC. *Effects of Exercise Training on*

- Neuromuscular Junction Morphology and Pre-to Post-Synaptic Coupling in Young and Aged Rats.* Neuroscience 2016; 316: 167-77.
- 16- Ghadiri Hormati L, Aminaei M, Dakhili AB. *The Effect of High-Intensity Exercise Training on Gene Expression of Semaphorin 3A in Extensor Digitorum Longus Muscles of Aged C57bl/6 Mice.* Scientific J Ilam University of Medical Sciences 2017; 25(1): 92-102.[Persian]
- 17- Tayebi SM, Siahkouhian M, Keshavarz M, Yousefi M. *The Effects of High-Intensity Interval Training on Skeletal Muscle Morphological Changes and Denervation Gene Expression of Aged Rats.* Montenegrin J Sports Science and Medicine 2019; 8(2): 39-45.
- 18- Mitchell WK, Atherton PJ, Williams J, Larvin M, Lund JN, Narici M. *Sarcopenia, Dynapenia, and the Impact of Advancing Age on Human Skeletal Muscle Size and Strength; A Quantitative Review.* Front in Physiol 2012; 3: 260.
- 19- Moro T, Brightwell CR, Deer RR, Graber TG, Galvan E, Fry CS, et al. *Muscle Protein Anabolic Resistance to Essential Amino Acids Does Not Occur in Healthy Older Adults Before or after Resistance Exercise Training.* J Nutr 2018; 148(6): 900-9.
- 20- Bickel CS, Cross JM, Bamman MM. *Exercise Dosing to Retain Resistance Training Adaptations in Young and Older Adults.* Med Sci Sports Exerc 2011; 43(7): 1177-87.
- 21- Stec MJ, Thalacker-Mercer A, Mayhew DL, Kelly NA, Tuggle SC, Merritt EK, et al. *Randomized, Four-Arm, Dose-Response Clinical Trial to Optimize Resistance Exercise Training for Older Adults with Age-Related Muscle Atrophy.* Exp Gerontol 2017; 99: 98-109.
- 22- Raue U, Trappe TA, Estrem ST, Qian H-R, Helvering LM, Smith RC, et al. *Transcriptome Signature of Resistance Exercise Adaptations: Mixed Muscle and Fiber Type Specific Profiles in Young and Old Adults.* J Appl Physiol 2012; 112(10): 1625-36.
- 23- Gonzalez-Freire M, De Cabo R, Studenski SA, Ferrucci L. *The Neuromuscular Junction: Aging at the Crossroad Between Nerves and Muscle.* Front in Aging Neurosci 2014; 6: 208.

Evaluation of Morphological Changes in Muscle Fibers and Neuronal Terminals of Motor Neurons in Male Rats from Childhood to Old Age

Mohammad Mahdi Bagherpour Tabalvandani¹, Mohammad Reza Fadaei Chafy^{*1}, Alireza Elmieh¹

Original Article

Introduction: The aim of this study was to investigate the effect of time and age on morphological changes in male rats.

Methods: For conducting this study, 15 male Wistar rats in three age groups of 2 weeks (150-100 g), 6 weeks (250-220 g) and 96 weeks (320-280 g) were kept in Pasargad Tissue and Gene Laboratory in Tehran City for six weeks and 48 hours later they were dissected and the soleus muscles was extracted. Cross-sectional area and number of muscle fibers were measured by light microscopy. Immunohistochemical method was used to measure sema3a and NCAM proteins of muscle fibers. To determine the differences between the groups, one-way analysis of variance with Tukey post hoc test was used at the significant level of $p \leq 0.05$. Statistical analysis was performed by Prism5 software.

Results: The results showed that there was a significant difference in the cross section of muscle fibers between the three age groups: children and young people ($p=0.01$), children and the elderly ($p=0.049$), and finally young people and the elderly ($p=0.049$). There was also a significant decrease in the number of muscle fibers in the age group of elderly compared to children and elderly to young people ($p \leq 0.001$). Moreover, sema3a protein expression increased significantly over time between the age groups of children and young ($p \leq 0.048$), children and elderly ($p=0.0001$) and finally young and elderly ($p=0.0001$). NCAM protein expression significantly reduced in three age groups: children and young people ($p=0.048$), children and controls ($p=0.0001$), and young and elderly people ($p=0.001$).

Conclusion: The results showed that with increasing growth from childhood to youth, hypertrophy increases and decreases in old age, in addition the process of hyperplasia will decrease with age. In addition to proteins involved in axonal growth due to growth decrease and neurodegenerative proteins also increase.

Keywords: Hypertrophy, hyperplasia, sema3a, NCAM.

Citation: Bagherpour Tabalvandani M.M, Fadaei Chafy M.R, Elmieh A. Evaluation of Morphological Changes in Muscle Fibers and Neuronal Terminals of Motor Neurons in Male Rats from Childhood to Old Age. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 30(5): 4851-60.

¹Department of Physical Education and Sport Science, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09112346956, email: mfadaei2000@yahoo.com