فیزیولوژی ورزشی شماره ۲۶، تابستان ۱۳۹۴. صص ۹۶-۸۱

تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مهار nNOS بر میزان پروتئین گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین عضلهٔ اسکلتی موش‌های صحرایی مسن

مجتبی صالح‌پور[۱]، مریم نورشاهی[۲]، فریبا خداقلی[۳]، حمید رجبی[۴]

۱. دانشجوی دکتری دانشگاه شهید بهشتی*
۲. دانشیار دانشگاه شهید بهشتی
۳. دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴. دانشیار دانشگاه خوارزمی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۴/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۷/۲۰

چکیده

هدف از انجام این پژوهش تعیین تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مهار nNOS بر میزان پروتئین گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین (nAchR) بود. تولید نیتریک اکساید (NO) به‌وسیله دو دوز 25 mg-1.kg-1.day -1 و 100 N G نیترو- L- آرژنین متیل استر (L-NAME) (مهارکننده nNOS)، مهار شد. ۴۸ سر موش نر نژاد ویستار مسن (۲۰ماهه) به‌صورت تصادفی به شش گروه کنترل، LNAME25,100، گروه‌های تمرین همراه با LNAME (Training+LNAME25,100) و گروه تمرین استقامتی (Training) تقسیم شدند. سه روز قبل از اجرای پروتکل مصرف LNAME شروع و تا زمان تشریح حیوانات این کار ادامه داشت. گروه‌های تمرینی به‌مدت هشت هفته، هر هفته پنج روز و روزی ۶۰ دقیقه با سرعت ۲۸ متر بر دقیقه روی نوارگردان می‌دویدند. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسهٔ تمرین، پس از بی‌هوش کردن حیوانات، عضلهٔ نعلی و عضلهٔ دراز انگشتان (EDL) برداشته‌شد. بررسی وسترن بلاتینگ نشان‌داد که در عضلهٔ نعلی و EDL، مصرف LNAME (100 mg-1.kg-1.day -1) سبب کاهش معنادار پروتئین nAchR شد (P<0.05)، نتایج این پژوهش نشان‌داد که تمرین می‌تواند سبب افزایش nAchR حتی در موش‌های صحرایی که LNAME مصرف کردند شود (P<0.05). با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر کاهش فعالیت nNOS سبب کاهش میزان پروتئین nAchR می‌گردد و تمرین استقامتی نه تنها سبب افزایش میزان nAchR می‌شود، بلکه می‌تواند محرکی برای افزایش میزان nAchR ناشی از کاهش یا نبود nNOS باشد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تمرین استقامتی می‌تواند سبب افزایش میزان nAchR حتی در موش‌هایی که LNAME دریافت می‌کردند شود و مسیر سیگنالی NOنیز می‌تواند نقش مهمی در تنظیم سطوح nAchR ایفا کند. به‌طورکلی، تمرین استقامتی می‌تواند روش مناسبی برای کاهش سارکوپنیا در افراد سالمند باشد.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، پیوندگاه عصب – عضله، سالمندی، نیتریک اکساید

* نویسنده مسئول Email: salehpour57@gmail.com

مقدمه

سالمندی فرایند کاهش پیش‌روندهٔ توانایی‌های فیزیولوژیکی است. طی سالمندی تغییرات ساختاری و فیزیولوژیکی زیادی رخ می‌دهد (۳-۱). یکی از مهمترین و بارزترین تغییر عملکردی که در دورهٔ سالمندی مشاهده می‌شود پدیده‌ای به نام سارکوپنیا[1] است. سارکوپنیا با ازدست دادن تدریجی توده و قدرت عضلانی (۵،۴) و کاهش سلول‌های ماهواره‌ای[2] (۶) همراه است. این فرایند در میانسالی شروع شده و در سنین بالای ۶۵ سال کاملاً بارز می‌شود (۷-۴). این تغییرات با افزایش خطر بروز بیماری، ناتوانی و مرگ در دورهٔ سالمندی همراه است. عوامل زیادی سبب بروز سارکوپنیا می‌گردد که شامل کاهش فعالیت‌بدنی (۸)، تغییر سطوح هورمونی (۹) و عوامل عصبی است (۱۰). یکی از تغییرات مهمی که در دوران سالمندی و همراه با سارکوپنیا رخ می‌دهد، تغییر ساختاری و عملکردی پیوندگاه عصب ـ عضله[3] (NMJ) است که تضعیف عملکرد جسمانی را در دوران سالمندی به همراه دارد (۱۲،۱۱).

NMJ یک سیناپس شیمیایی است که دارای بخش‌های پیش‌سیناپسی، فضای‌سیناپسی و پس‌سیناپسی است. بخش پس‌سیناپسی، غشای عضلانی بوده و دارای چگالی بالایی از گیرنده‌های استیل‌کولینی و مولکول‌های دیگری است که برای تثبیت و حفظ NMJ اهمیت دارند (۱۳). در غشای تار عضلانی در NMJ طیف وسیعی از پروتئین‌ها از جمله دیستروگلیکان‌ها[4] وجود دارند که احتمالاً مهمترین آنها گیرنده‌های استیل‌کولینی[5] (AchR) می‌باشند. این گیرنده‌ها کانال‌های یونی دریچه‌دار وابسته به استیل‌کولین هستند (۱۴). هر گیرنده، یک مجموعهٔ پروتئینی با پنج زیر واحد است که از دو آلفا، بتا، دلتا، گاما پروتئین ساخته شده‌است. این پروتئین‌ها به صورت دایره‌مانند در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند و کانال لوله‌ای شکلی تشکیل می‌دهند. این کانال‌ها بسته باقی می‌مانند تا دو مولکول استیل کولین به دو زیر واحد آلفا متصل شوند. با توجه به میل ترکیبی AchRها به مولکول‌های متفاوت به دو دسته گیرنده‌های نیکوتینی[6] (nAchRs) و گیرنده‌های ماسکارینی‌استیل-کولین[7] (mAchRs) طبقه‌بندی می‌شوند.nAchRs نیز به دو صورت عضلانی و عصبی وجود دارند. نوع عضلانی این گیرنده‌ها در پیوندگاه عصبی ـ عضلانی قرار دارد و نوع عصبی آنها به‌طور گسترده

1. Sarcopenia
2. satellite cells
3. neuromuscular junction
4. Dystroglycan
5. Acetylcholine receptor
6. nicotinic acetylcholine receptors
7. mascorinic acetylcholine receptors

در دستگاه عصبی محیطی و مرکزی وجود دارند (۱۵). پژوهشگران نشان دادند که انتقال سیناپسی سریع و دقیق نیازمند تجمع و چگالی بالای گیرنده‌های انتقال دهندهٔ پیام عصبی در غشای پس‌سیناپسی است. به‌همین منظور این گیرنده‌ها باید در قسمت مقابل منطقهٔ آزاد شدن ناقلین از پایانهٔ عصبی با چگالی بالا وجود داشته‌باشند. بنابراین انتقال سیناپسی مطلوب به حضور این گیرنده‌ها وابسته است. از سوی دیگر ریمن و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تغییرات همراه با سن در NMJ ممکن است مهمترین عامل بروز سارکوپنیا در افراد سالمند باشد و در مقابل مطالعات انجام شده در زمینهٔ نقش تمرین ورزشی در NMJ نشان دادند که بعد از فعالیت ورزشی میزان پروتئین nAchR افزایش یافته و کارایی NMJ بهبود می‌یابد (۱۸-۱۶). به‌عنوان مثال دسولنیرز و همکاران (۱۹۹۸) تمرین استقامتی سبب افزایش تعداد nAchR عضلهٔ موش‌های صحرایی می‌شود (۱۶). گرگین و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین استقامتی، مقاومتی و ترکیبی سبب افزایش میزان پروتئین nAchR عضله تند انقباض موش‌های صحرایی می‌شود (۱۹). دشن و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که تمرین مقاومتی برای افزایش سطح صفحهٔ انتهایی کافی است و به اندازهٔ تمرین استقامتی سبب توسعهٔ صفحهٔ انتهایی می‌گردد (۱۸). با این وجود مسیرهای سیگنالی مرتبط با این موضوع کاملاً مشخص نسیت. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که پروتئین‌های مختلفی در تشکیل و تثبیت AchRها و دستگاه NMJ نقش دارند (۲۰). این عوامل شامل نروگلین[۱]، ARIA[۲]، CGRP[۳] (پپتید مرتبط با ژن کلسی تونین)، آگرین[۴] و نیتریک‌اکساید[۵] است (۲۰).

شواهد اخیر حاصل از مطالعات کشت سلول عضلانی و مطالعات انجام شده در دوران جنینی حاکی از آن است که نیتریک‌اکساید یک اثرکننده تمایز پس‌سیناپسی ناشی از اگرین در NMJ بوده و در تجمع AchR ناشی از اگرین نقش دارد (۲۱،۲۰). NO بوسیلهٔ آنزیم نیتریک‌اکسایدسنتاز (NOS) از تبدیل ال- آرژنین به ال سیترولین تولید می‌شود (۲۲). NOSها دارای سه ایزوفرم NOS نرونی یا nNOS[۶]، NOSاندوتلیالی یا eNOS[۷] و NOS القایی یا iNOD[۸] است (۲۳). nNOS مهمترین ایزوفرم است که در عضلات اسکلتی و قلبی همهٔ پستانداران بیان شده و در NMJ نیز تجمع می‌یابد (۲۴). پژوهشگران نشان دادند که NO در هایپرتروفی عضلانی ناشی از اعمال بار و همچنین تبدیل انواع

1. Neuregulin
2. Acetycholine receptor inducing activity
3. Calcitonin Gene-related peptide
4. Agrin
5. Nitric Oxide
6. neuronal nitric oxide synthase
7. endothelial nitric oxide synthase
8. inducible nitric oxide synthase

تارها به یکدیگر نیز نقش دارد (۲۵) و بیان NOS به دنبال قطع عصب کاهش می‌یابد (۲۶). بیان nNOS به‌وسیلهٔ آسیب برخوردی و فعالیت عضلانی نیز افزایش می‌یابد (۲۷). برخی از پژوهشگران نیز نشان دادند که فعالیت nNOS عضلهٔ نعلی و EDL[1] موش‌های صحرایی طی دوران سالمندی کاهش می‌یابد (۲۸). در این رابطه سانگ و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند که بیان پروتئین nNOS همراه با افزایش سن کاهش می‌یابد و تمرین استقامتی به‌طور معناداری سبب افزایش بیان پروتئین nNOS در عضلهٔ تند انقباض (بخش سفید عضلهٔ دوقلو) و کند انقباض (نعلی) موش‌های صحرایی شد (۲۹).

به‌طورکلی، نتایج پژوهش‌های انجام شده بیشتر در زمینهٔ تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی همراه با افزایش سن یا انجام فعالیت‌بدنی می‌باشند و در مورد سازوکار این تغییرات اطلاعات کمی در دسترس است. از آن‌جایی‌که پدیدهٔ سالمندی و فعالی عضلانی می‌توانند عوامل تأثیرگذار بر NMJ از طریق سازوکار nNOS باشند، این موضوع باید بیشتر مورد توجه قرار گیرد. با توجه به اهمیت انجام تمرینات استقامتی برای افراد سالمند به لحاظ سلامت قلبی- عروقی، متابولیسم گلوکز و ترکیب بدن (۳۰)، همچنین اثرات سودمند تمرین استقامتی در سازگاری‌های NMJ از جمله افزایش گیرندهای استیل‌کولینی (۱۹) و از طرف دیگر کاهش فعالیت nNOS در روند سالمندی و ارتباط حفظ و تثبیت گیرنده‌های استیل‌کولینی با فعالیت nNOS (۲۱) به نظر می‌رسد که فعالیت استقامتی بتواند تا حدی کاهش فعالیت nNOS در دوران سالمندی را جبران کند. به‌هرحال این موضوع کاملاً مشخص نشده‌است. بنابراین سؤال پژوهش این است که آیا هشت هفته تمرین استقامتی و مهار nNOS بر میزان پروتئین گیرنده‌های نیکوتینی‌استیل‌کولین عضلهٔ موش‌های صحرایی نر مسن تأثیر دارد؟

روش پژوهش

۴۸ سر موش نر مسن (۲۰ ماهه) (انحراف معیار± میانگین وزنی ۱۲/۷±۳۵۷/۹ گرم) نژاد ویستار آزمودنی‌های این پژوهش بودند. موش‌ها در گروه‌های دو تایی و در محیطی با میانگین دمای ۱/۴±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴± درصد۵۵ و چرخهٔ روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژهٔ موش صحرایی (تولید شرکت خوراک دام پارس) دسترسی آزاد داشتند. آزمودنی‌ها پس از سه روز آشنایی با محیط آزمایشگاه به‌طور تصادفی به گروه‌های هشت سری کنترل، گروه‌های LNAME 25,100،

1. Extensor Digitorum Longus

گروه‌های تمرین استقامتی همراه با LNAME (Training+LNAME25، Training+LNAME100) و گروه تمرین استقامتی (Training) تقسیم شدند. سه روز قبل از شروع آزمایش برای مهار nNOS روزانه از NG نیترو-L- آرژنین متیل استر[1] (L-NAME) (Sigma N5751) به صورت محلول با آب آشامیدنی در دو دوز ۲۵ (معادل ۰/۱۸۷ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) و ۱۰۰ (معادل ۰/۷۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن موش‌ها خورانده شد (شواهد نشان‌دادند که این دوز تا ۹۸ درصد سبب مهار NO می‌شود) (۲۵) و این کار تا زمان تشریح حیوانات ادامه داشت. موش‌ها در گروه تجربی به مدت هشت هفته، هر هفته پنج روز روی نوارگردان مخصوص حیوانات (ساخت شرکت تکنیک آزما) تمرین می‌کردند. کل دورهٔ تمرین به سه مرحلهٔ آشنایی، اضافه بار و حفظ یا تثبیت شدت کار تقسیم شد (جدول۱). در هفتهٔ پنجم تا هشتم موش‌ها به‌مدت چهار هفته با شدت تعیین شدهٔ ۲۸ متر بر دقیقه، معادل ۷۵-۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و به‌مدت ۶۰ دقیقه روی نوارگردان دویدند، که در تمامی مراحل فوق شیب نوارگردان صفر درجه بود (۳۱). با توجه به نقش شدت و سرعت تمرین در افزایش توزیع گیرنده‌های استیل کولینی در پژوهش حاضر از شدت بالای تمرینی استفاده‌شد (۱۸). ضمناً از مجموع زمان فعالیت، پنج دقیقه برای گرم‌کردن و پنج دقیقه برای سردکردن موش‌ها با سرعت هفت متر بر دقیقه در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است تمامی مراحل انجام پژوهش توسط کمیتهٔ اخلاق پژوهشی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تأیید شد. ضمناً دو سر از موش‌های گروه Training+LNAME25 و سه سر از موش‌های گروه Training+LNAME100 و همچنین دو سر از موش‌های گروه LNAME100 حین انجام پروتکل تلف شدند. به‌منظور از بین بردن اثر حاد آخرین جلسه تمرین استقامتی، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، نمونه‌گیری انجام‌شد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین[2] (۳۰-۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلزین[3] (سه تا پنج میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. با توجه به نقش متفاوت دو عضله نعلی و EDL میزان درگیری این دو عضله در تمرین استقامتی، عضلهٔ EDL و عضلهٔ نعلی برای اندازه‌گیری میزان پروتئین nAchR به روش وسترن بلات و با استفاده از آنتی بادی Anti-Nicotinic acetylcholine receptor ساخت شرکت آمریکایی ابکم[4] برداشته شدند. برای انجام تست وسترن بلات مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی آکریل آمید ۱۲SDS-PAGE درصد جداسازی شد. بعد از مرحلهٔ الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به

1. NG- Nitro-L- Argenin Methyl Esteer
2. Ketamine
3. Xylazine
4. abcam

کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ در محلول بلاکینگ برای یک ساعت قرار گرفت . سپس کاغذ یک شب در آنتی‌بادی اولیه در چهار درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده‌شده و در روز دوم سه بار با محلول TBST شستشو داده و کاغذ را با آنتی‌بادی ثانویه به‌مدت یک ساعت انکوبه شد. بعد از این مرحله کاغذها را با کیت ECL پوشانده و با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شدند. بلات‌ها را سپس در بافر استریپینگ شستشو داده و آنتی بادی بتا-اکتین را به‌روی کاغذ گذاشته و دوباره با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شد و بتا- اکتین کنترل را هم در فیلم رادیولوژی ظاهر کرده و توسط برنامهٔ Image J باندهای بدست آمده دانسیتومتری شدند.

جدول۱- تمرین استقامتی موش‌های گروه تمرین استقامتی با یا بدون L-NAME

مراحل تمرین	هفته	زمان فعالیت (دقیقه)	سرعت تردمیل (متر در دقیقه)
آشنایی	اول	۱۰-۱۵	۱۰
اضافه بار	دوم	۱۵-۳۰	۱۲-۱۷
	سوم	۳۰-۴۵	۱۷-۲۳
	چهارم	۴۵-۶۰	۲۳-۲۸
تثبیت	پنجم تا پایان	۶۰	۲۸

به منظور طبیعی‌بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو – ویلک و برای مقایسه تغییرات گروه‌های مختلف از آزمون تحلیل واریانس یک‌سویه استفاده‌شد. در صورت مشاهدهٔ تفاوت معنادار بین گروه‌های مختلف، برای یافتن محل تفاوت‌ها به آزمون تعقیبی توکی مراجعه شد. سطح معناداری برای تمام تحلیل‌های آماری $P<0.05$ در نظر گرفته شد. کلیهٔ مراحل انجام پژوهش در پژوهشکده علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد.

نتایج

میانگین و انحراف معیار تغییرات وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف در جدول۱ نشان داده شده‌است.

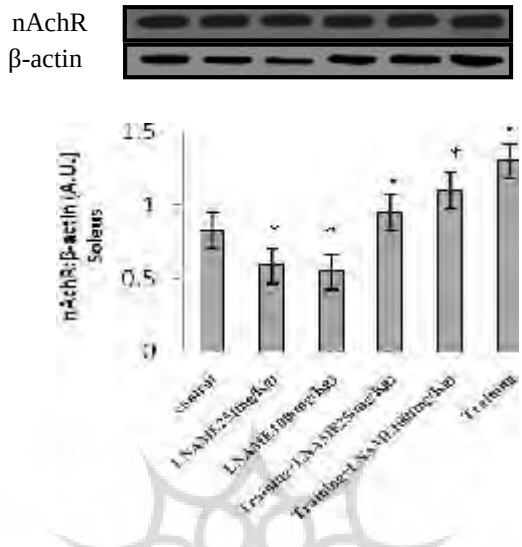
جدول۲- میانگین ± انحراف معیار وزن (گرم) گروه‌های مختلف تمرینی

گروه زمان	هفته اول	هفته هشتم
Control	۳۵۶/۷±۲۷/۱	۳۷۸/۵±۲۸/۱
LNAME25mg/kg	۳۴۸/۲±۱۸/۹	۳۴۰/۷±۳۰/۵
LNAME100mg/kg	۳۶۶±۳۰/۳	۳۵۶/۸±۱۸/۶
Training+LNAME25mg/kg	۳۳۹/۶±۱۴/۴	۳۲۹/۸±۱۲/۶
Training+LNAME100mg/kg	۳۶۱/۴±۳۵	۳۳۹/۲±۳۳/۳*
Training	۳۷۵/۳±۲۶/۵	۳۶۳/۶±۲۵/۴*

علامت * نشان دهنده معنادار بودن تفاوت گروه‌ها با گروه کنترل است.

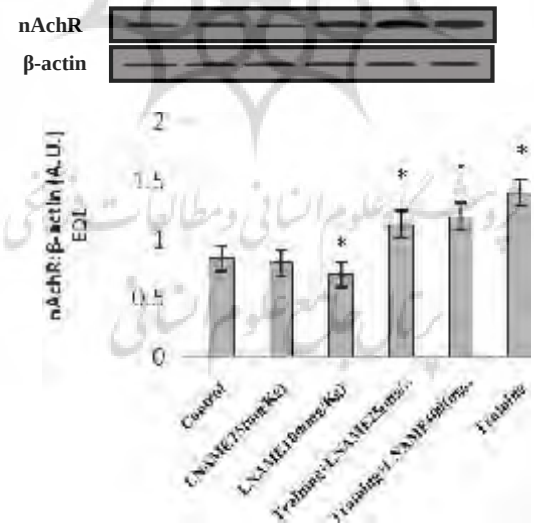
نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌سویه نشان‌داد که تغییرات میزان nAchR در عضلهٔ نعلی گروه‌های مختلف معنادار بود ($P<0.0005$) و $F_{(17,5)}= 74.10$). برای بررسی معناداری بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه کنترل با گروه LNAME25 (P=0.005)، LNAME100 (P=0.001)، گروه تمرین استقامتی همراه با LNAME25 (P=0.024)، گروه تمرین استقامتی همراه با LNAME100 (P=0.002) و گروه تمرین استقامتی (P<0.0005) تفاوت معنادار وجود دارد. همچنین مشاهده‌شد که تغییرات بین LNAME25 و LNAME100 با سه گروه تمرینی معنادار است (P<0.0005). تفاوت بین گروه تمرین استقامتی و گروه‌های تمرین استقامتی همراه با LNAME25 (P=0.001) و LNAME100 (P=0.007) نیز معنادار بود (شکل۱).

همچنین نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌سویه نشان‌دادند که تغییرات میزان پروتئین nAchR در عضلهٔ EDL گروه‌های مختلف معنادار بود (P<0.0005 و $F_{(17,5)}$=124.19). بررسی معناداری بین گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی نشان‌داد که بین گروه کنترل با گروه LNAME100 (P=0.02)، Training+LNAME25 (P<0.0005)، Training+LNAME100و گروه تمرین تفاوت معنادار بود (P<0.0005) ولی این تفاوت بین گروه کنترل وLNAME25 معنادار نبود (P=0.94) (شکل۲). همچنین نتایج آزمون توکی نشان‌داد که تغییرات بین سه گروه تمرینی و LNAME100 معنادار بود (P<0.0005). تفاوت بین گروه تمرین استقامتی و گروه‌های تمرین استقامتی همراه با LNAME25 (P<0.0005) و LNAME100 نیز معنادار بود (P=0.01).



شکل۱- میانگین‌ها و انحراف معیار پروتئین nAchR در عضله نعلی گروه‌ها

علامت * نشان دهنده تفاوت معنادار گروه‌ها با گروه کنترل است ($P<0.05$).



شکل۲- میانگین و انحراف معیار پروتئین nAchR درعضله EDL گروه‌ها

علامت * نشان دهنده تفاوت معنادار گروه‌ها با گروه کنترل است ($P<0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان‌داد که هشت هفته تمرین استقامتی سبب افزایش میزان پروتئین گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین نعلی و EDL موش‌های صحرایی نر سالمند شد. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش دسولنیرز و همکاران (۱۹۹۸)، هوگ و همکاران (۲۰۰۶) و همچنین گرگین و همکاران (۱۳۸۹) همسو می‌باشد (۳۳،۳۲،۱۹). اما با نتایج پژوهش فهیم (۱۹۹۷) مغایرت دارد (۱۷). علت این تفاوت احتمالاً روش‌شناسی باشد به‌طوری‌که در این پژوهش از روش وسترن بلات استفاده‌شد ضمناً شدت و مدت تمرین این دو پژوهش دقیقا مشابه هم نبوده‌است. دشن و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که تغییر در توزیع گیرنده‌های استیل کولینی ممکن است تحت تأثیر شدت تمرین قرارگیرد، به طوری‌که دویدن با سرعت زیاد پراکندگی پس‌سیناپسی را افزایش می‌دهد درحالی‌که دویدن با سرعت کم این پراکندگی را کاهش می‌دهد (۱۸). در پژوهش حاضر موش‌های سالمند هشت هفته، هفته‌ای پنج روز و روزی ۶۰ دقیقه با سرعت حداکثر ۲۸ متر بر دقیقه که معادل ۷۵-۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود، روی نوارگردان می‌دویدند که سبب افزایش میزان nAchR در هر دو عضلهٔ کند و تند انقباض شد. احتمالاً تمرین استقامتی با این شدت می‌تواند NMJ را تحت تأثیر قرار دهد و سبب فعال‌شدن مسیرهای سیگنالی گردد که درنهایت سبب تولید این گیرنده‌ها در این سن گردد. با این وجود سازوکار این تغییرات ناشی از تمرین همچنان ناشناخته باقی‌مانده‌اند. پژوهشگران نشان دادند که مکانسیم‌های کنترلی نظیر عوامل میوژنیک، فعالیت الکتریکی تار عضلانی، پپتید مرتبط با ژن کلسی تونین (CGRP)، ATP و اگرین بیان ژن زیر واحد AchR را تنظیم می‌کنند (۳۴). قراخانلو و همکاران (۱۹۹۹) گزارش دادند که افزایش فعالیت عصبی – عضلانی بر اثر تمرین استقامتی موجب تنظیم افزایشی CGRP نرون‌های محرکه شده و در کوتاه‌مدت حساسیت گیرنده‌های استیل کولین را از طریق سازوکار فسفوریلاسیون کم می‌کند و از طریق مسیر PKC مرتبط با cAMP سبب ساخت گیرنده‌های استیل کولینی در دراز مدت می‌گردد (۳۵). در واقع اتصال CGRP به گیرنده‌اش در صفحه محرکهٔ انتهایی منجر به فعال‌شدن آدنیلات سیکلاز می‌گردد که به نوبهٔ خود cAMP را افزایش می‌دهد و با تولید AchR نقش مهمی در شکل‌پذیری صفحهٔ محرکهٔ انتهایی عضلات تمرین‌کرده ایفا می‌کند (۳۶). در تأیید این موضوع پرنو و همکاران (۱۳۸۸) نیز گزارش دادند که تمرینات استقامتی سبب افزایش CGRP در عضلهٔ تند و کند می‌شود. بنابراین یکی از دلایل افزایش nAchR پس از تمرین استقامتی، احتمالا افزایش CGRP باشد (۳۷). از سوی دیگر نتایج پژوهش‌های گذشته مبنی بر این است که اگرین شرط لازم و کافی برای تشکیل و تثبیتnAchR است که این کار را از طریق مسیرهای سیگنالی متفاوت نظیر تیروزین کیناز ویژهٔ عضله (Musk)، کمپلکس دیستروگلیکان و نروگلین-۱

(NRG-1) انجام می‌دهد که البته تأثیر تمرین ورزشی بر این پروتئین و مسیرهای سیگنالی آن ناشناخته باقی‌مانده است(۳۸).

یکی دیگر از عواملی که در تثبیت nAchRها و دستگاه NMJ نقش دارد، نیتریک اکساید است که در تجمع nAchR ناشی از اگرین درگیر است (۲۱،۲۰). بنابراین کاهش فعالیت nNOS عضلانی در دوران سالمندی منطقی به‌نظر می‌رسد (۲۸). نتایج این پژوهش نشان‌داد که هشت هفته مهار nNOS با دو دوز ۲۵ و ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن سبب کاهش میزان پروتئین nAchR در عضلهٔ کند و تند انقباض شد. البته کاهش میزان پروتئین nAchR با دوز mg^{-}/day^{-1} $^{1}/kg^{-1}$ ۲۵ در EDL به لحاظ آماری معنادار نبود. شواهد اخیر حاصل از مطالعات کشت سلول عضلانی و مطالعات انجام شده در دوران جنینی حاکی از آن است که NO یک اثرکننده تمایز پس‌سیناپسی ناشی از اگرین در NMJ بوده و در تولید و تجمع nAchR ناشی از اگرین نقش دارد (۲۱،۲۰). در واقع NO به‌عنوان یک مداخله‌گر پایین‌رو در دسته‌بندی AchR ناشی از اگرین عمل می‌کند (۳۹). NO از طریق مسیرهای گوناگونی سبب تجمع و تثبیت nAchR می‌گردد. افزایش NO سبب فعال‌سازی گوانیلات‌سیکلاز و افزایش cGMP می‌گردد. براساس یک مدل پیشنهادی، افزایش NO یا cGMP ناشی از اگرین پروتئین کیناز وابسته به cGMP (PKG) را فعال می‌کند که می‌تواند از طریق افزایش تعامل دیستروفین و اتروفین در NMJ با اکتین‌سایتواسکلتون، در تجمع AchR نقش داشته‌باشد (۴۰). یکی دیگر از مسیرهایی که از طریق آن NO ممکن است سبب تجمع AchR گردد، مهار پروتئین کیناز C (PKC) است. PKC به‌طور مستقیم به‌وسیلهٔ NO مهار می‌شود. بنابراین تحریک اگرین می‌تواند تولید PKC را مهار کند. در عوض PKC به‌عنوان یک تنظیم‌کنندهٔ منفی مسیر سیگنالی اگرین عمل می‌کند. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که بیان بیش از حد PKC به‌طور چشمگیری تجمع AchR ناشی از اگرین را مهار می‌کند. فسفوریلاسیون PKC در دیستروفین، اتصال دیستروفین به F – اکتین را مهار می‌کند درحالی‌که PKG سبب افزایش اتصال دیستروفین به اکتین می‌گردد. بنابراین مهار PKC سبب افزایش تعامل دیستروبروین و اوتروفین با اکتین و تثبیت AchR در NMJ می‌گردد (۴۱). NO همچنین ممکن است در تعامل AchR با راپسین و دیستروگلیکان نقش داشته‌باشد که سبب استحکام سایتواسکلتونی AchR از طریق فعال‌سازی کینازهای خانواده Src می‌گردد. این کینازها با Musk به روش وابسته به اگرین در تعامل می‌باشند (۲۰). NO می‌تواند به‌طور مستقیم Src را فعال کند و به تجمع AchR ناشی از اگرین کمک کند، زیرا مهار کینازهای خانوادهٔ Src تجمع AchR ناشی از اگرین را مسدود می‌کند. یک سازوکار احتمالی برای عمل این کینازها این است که فسفوریلاسیون زیرواحدهای بتای AchR به‌وسیلهٔ کینازهای Src تعامل AchR را با راپسین افزایش‌داده و سبب استحکام و اتصال بیشتر

AchR به سایتواسکلتون می‌گردد (۲۰). بنابراین وجود Src برای تثبیت و تجمع AchR ناشی از اگرین لازم است. در مجموع با توجه به سازوکار عمل NO در تثبیت و تجمع nAchR این احتمال وجود دارد که هشت هفته مهار nNOS به نوبه خود مسیرهایی را که NO از طریق آنها سبب تجمع و تثبیت nAchR می‌گشت، مهار کرده و منجر به کاهش میزان پروتئین nAchR گردد. از سوی دیگر پژوهشگران نشان‌دادند که میزان nNOS در تارهای تند انقباض گلیکولیتیکی بیشتر از تارهای کندانقباض است (۴۲)، بنابراین علت معنادار نبودن کاهش پروتئین nAchR با هشت هفته مهار nNOS با دوز ۲۵mg/kg/day در عضلهٔ EDL احتمالاً فعالیت بیشتر nNOS در این عضله به‌عنوان یک عضلهٔ تند انقباض باشد و این دوز برای مهار nNOS کافی نیست.

نتایج این پژوهش همچنین نشان‌داد که هشت هفته تمرین استقامتی به همراه مهار nNOS با دو دوز $mg^{-1}/kg^{-1}/day^{-1}$ ۲۵و۱۰۰ سبب افزایش میزان پروتئین nAchR نسبت به گروه کنترل شد. سانگ و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند که بیان پروتئین nNOS همراه با افزایش سن کاهش می‌یابد اما تمرین استقامتی به‌طور معناداری سبب افزایش بیان پروتئین nNOS در عضلهٔ تندانقباض (بخش سفید عضلهٔ دوقلو) و کندانقباض (نعلی) موش‌های صحرایی شد (۲۹). نتایج پژوهش‌های گذشته نشان می‌دهد که بعد از تمرین ورزشی (۴۳) یا تحریک الکتریکی (۴۴)، NOS در عضلهٔ اسکلتی دارای یک تنظیم افزایشی بوده و بیان و فعالیت NOS رابطهٔ مستقیمی با الگوی اعمال بار دارد، به طوری‌که حذف بار سبب تنظیم کاهشی و اعمال بار مجدد نیز سبب طبیعی شدن بیان NOS می‌گردد (۴۶،۴۵). همچنین گزارش شده است که هنگام فعالیت عضلانی سطوح NO تا شش برابر افزایش می‌یابد (۴۸،۴۷). از سوی دیگر شواهد موجود حاکی از آن است که فعالیت ورزشی سبب افزایش کوفاکتورهای لازم برای فعالیت NOS نظیر FAD (فلاوین‌آدنین‌دی‌نوکلئوتید) - FMN (فلاوین‌منونوکلئوتید) آهن‌پروتروفین۹ (هم) - تترا هیدرو پورین – کالمودورین می‌گردد (۴۹)، به‌طوری‌که افزایش این کوفاکتورها، فعالیت NOS را افزایش‌داده و احتمالاً تمرین ورزشی مهار NO را از این طریق جبران کرده‌است. از آنجایی‌که مسیر دیگر تولید NO در داخل بدن از پروکسیدنیترات (NO/O2) است (۲۳)، احتمال دارد هنگام تمرین استقامتی جبران مهار NO از این طریق نیز انجام شده‌باشد. عامل مهم دیگری که با انجام فعالیت ورزشی بیان و فعالیت nNOS را افزایش می‌دهد Ca^{2+} است، پژوهشگران نشان‌دادند که فعالیت eNOS و nNOS وابسته به کلسیم-کالمودولین است و این ایزوفرم‌ها در سطوح کلسیمی پایهٔ سیتوپلاسم فعالیت آنزیمی کمی دارند (۵۰). بنابراین احتمالاً انجام تمرین استقامتی با افزایش بیان و فعالیت nNOS و همچنین افزایش کلسیم و کوفاکتورهای لازم برای فعالیت nNOS نظیر FAD(فلاوین‌آدنین‌دی‌نوکلئوتید) - FMN (فلاوین‌منونوکلئوتید) – آهن‌پروتروفین نه (هم) – تتراهیدرو پورین – کالمودورین تأثیر

جبرانی بر مهار nNOS دارد و سبب تولید و افزایش سطوح NO شده در نهایت سبب افزایش میزان nAchR می‌گردد (۴۹).

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان‌داد که تمرین استقامتی سبب افزایش میزان پروتئین nAchR در موش‌های صحرایی مسن می‌گردد. از سوی دیگر نتایج این پژوهش نشان داد که مهار nNOS سبب کاهش معنادار پروتئین nAchR می‌شود. بنابراین با توجه به این‌که بیان پروتئین nNOS همراه با افزایش سن کاهش می‌یابد، احتمالاً یکی از دلایل تحلیل NMJ طی دوران سالمندی کاهش فعالیت nNOS باشد. همچنین نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تمرین استقامتی احتمالاً با افزایش فعالیت nNOS و تولید NO بیشتر می‌تواند تأثیر جبرانی برکاهش میزان فعالیت nNOS طی دوران سالمندی داشته‌باشد و سبب حفظ و افزایش میزان پروتئین nAchR در این دوران گردد. با توجه به این‌که یکی از دلایل بروز سارکوپنیا در دوران سالمندی تحلیل NMJ است و همان‌طورکه در این پژوهش نشان داده‌شد که تمرین استقامتی سبب افزایش nAchR می‌گردد، پیشنهاد می‌شود افراد سالمند برای حفظ و نوسازی nAchR و NMJ از پروتکل‌های تمرین استقامتی بهره‌مند شوند. همچنین با توجه به اهمیت نقشnNOS و مسیرهای سیگنالی وابسته به NO در تثبیت و تجمع nAchR، پیشنهاد می‌شود پژوهش بعدی تأثیر پروتکل‌های تمرینی مختلف و شدت‌های تمرینی مختلف بر مسیرهای سیگنالی وابسته به NO را مورد بررسی قرار دهند.

پیام مقاله: یکی از دلایل تحلیل NMJ طی دوران سالمندی احتمالاً کاهش فعالیت nNOS باشد و تمرین استقامتی می‌تواند با افزایش فعالیت nNOS و تولید NO بیشتر تاثیر جبرانی برکاهش میزان فعالیت nNOS طی دوران سالمندی داشته باشد و سبب حفظ و افزایش میزان پروتئین nAchR در این دوران گردد. بنابراین تمرین استقامتی می‌تواند در کاهش سارکوپنیا در میان افراد سالمند مؤثر باشد.

منابع

1) Gallegly Jc, Turesky NA, Strotman BA, Gurley CM, Peterson CA, Dupont-Versteegden EE. Satellite cell regulation of muscle mass is altered at old age. Journal of Applied Physiology. 2004;97(3):1082-90.

2) Marcell TJ. Sarcopenia: causes, consequences, and preventions. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences. 2003;58(10):911-6.

3) Narici MV, Maffulli N. Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. British medical bulletin. 2010;95(1):139-59.

4) Frontera WR, Hughes VA, Fielding RA, Fiatarone MA, Evans WJ, Roubenoff R. Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. Journal of Applied Physiology. 2000; 88(4):1321-6.

5) Hughes VA, Frontera WR, Wood M, Evans WJ, Dallal GE, Roubenoff R, et al. Longitudinal Muscle Strength Changes in Older Adults Influence of Muscle Mass, Physical Activity, and Health. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences. 2001; 56(5):209-17.

6) Kadi F, Charifi N, Denis C, Lexell J. Satellite cells and myonuclei in young and elderly women and men. Muscle & nerve. 2003; 29(1):120-7.

7) Lukaszyk A, Bodzenta-Lukaszyk A, Aksiucik A, Gabryelewicz A, Konturek S, Bielawiec M. The role of epidermal growth factor in platelet-endothelium interactions. Journal of physiology and pharmacology. 1998; 49:229-40.

8) Chien MY, Kuo HK, Wu YT. Sarcopenia, cardiopulmonary fitness, and physical disability in community-dwelling elderly people. Physical therapy. 2010; 90(9):1277-87.

9) Fry CS, Glynn EL, Drummond MJ, Timmerman KL, Fujita S, Abe T, et al. Blood flow restriction exercise stimulates mTORC1 signaling and muscle protein synthesis in older men. Journal of Applied Physiology. 2010; 108(5):1199-209.

10) Doherty TJ. Invited review: aging and sarcopenia. Journal of Applied Physiology. 2003; 95(4):1717-27.

11) Edström E, Altun M, Bergman E, Johnson H, Kullberg S, Ramírez-León V, et al. Factors contributing to neuromuscular impairment and sarcopenia during aging. Physiology & behavior. 2007; 92(1):129-35.

12) Jang YC, Van Remmen H. Age-associated alterations of the neuromuscular junction. Experimental gerontology. 2011; 46(2):193-8.

13) Punga AR, Ruegg MA. Signaling and aging at the neuromuscular synapse: lessons learnt from neuromuscular diseases. Current Opinion in Pharmacology. 2012; 12(3): 340-6.

14) Hoch W. Formation of the neuromuscular junction. European Journal of Biochemistry. 2001; 265(1):1-10.

15) Kalamida D, Poulas K, Avramopoulou V, Fostieri E, Lagoumintzis G, Lazaridis K, et al. Muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors. FEBS Journal. 2007; 274(15):3799-845.

16) Desaulniers P, Lavoie P-A, Gardiner PF. Endurance training increases acetylcholine receptor quantity at neuromuscular junctions of adult rat skeletal muscle. Neuroreport. 1998; 9(16):3549-52.

17) Fahim MA. Endurance exercise modulates neuromuscular junction of C57BL/6NNia aging mice. Journal of Applied Physiology. 1997; 83(1):59-66.

18) Deschenes MR, Judelson DA, Kraemer WJ, Meskaitis VJ, Volek JS, Nindl BC, et al. Effects of resistance training on neuromuscular junction morphology. Muscle & nerve. 2000; 23(10):1576-81.

19) Gorgin Karaji Z, Parnoo A, Gharakhanlou R, Rajabi S. The Effect of Endurance Training on amount of Nicotinic Acetylcholine Receptors (nAChR) in Fast and Slow Twitch Muscle of Male Wistar Rats. Journal of Kermanshah University of Medical Sciences. 2013; 16(7):518-24.

20) Huh KH, Fuhrer C. Clustering of nicotinic acetylcholine receptors: from the neuromuscular junction to interneuronal synapses. Molecular neurobiology. 2002; 25(1):79-112.

21) Godfrey EW, Schwarte RC. The role of nitric oxide signaling in the formation of the neuromuscular junction. Journal of neurocytology. 2003; 32(5):591-602.

22) Moncada S, Higgs E. Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. The FASEB journal. 1995; 9(13):1319-30.

23) Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. Physiological reviews. 2001; 81(1):209-37.

24) Chaubourt E, Voisin V, Fossier P, Baux G, Israël M, De La Porte S. Muscular nitric oxide synthase (muNOS) and utrophin. Journal of Physiology-Paris. 2002; 96(1):43-52.

25) Smith LW, Smith JD, Criswell DS. Involvement of nitric oxide synthase in skeletal muscle adaptation to chronic overload. Journal of Applied Physiology. 2002; 92(5): 2005-11.

26) Tews DS, Goebel HH, Schneider I, Gunkel A, Stennert E, Neiss WF. Expression of different isoforms of nitric oxide synthase in experimentally denervated and reinnervated skeletal muscle. Journal of neuropathology and experimental neurology. 1997; 56(12):1283.

27) Rubinstein I, Abassi Z, Coleman R, Milman F, Winaver J, Better OS. Involvement of nitric oxide system in experimental muscle crush injury. Journal of Clinical Investigation. 1998; 101(6):1325.

28) Richmonds CR, Boonyapisit K, Kusner LL, Kaminski HJ. Nitric oxide synthase in aging rat skeletal muscle. Mechanisms of ageing and development. 1999; 109(3):177-89.

29) Song W, Kwak HB, Kim JH, Lawler JM. Exercise training modulates the nitric oxide synthase profile in skeletal muscle from old rats. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences. 2009; 64(5):540.

30) Nelson ME, Rejeski WJ, Blair SN, Duncan PW, Judge JO, King AC, et al. Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. Medicine and science in sports and exercise. 2007; 116 (9) 1094-105.

31) Naito H, Powers SK, Demirel HA, Aoki J. Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats. Medicine and science in sports and exercise. 2001; 33(5):729.

32) Hughes BW, Kusner LL, Kaminski HJ. Molecular architecture of the neuromuscular junction. Muscle & nerve. 2006; 33(4):445-61.

33) Desaulniers P, Lavoie PA, Gardiner PF. Endurance training increases acetylcholine receptor quantity at neuromuscular junctions of adult rat skeletal muscle. Neuroreport. 1998; 9(16):3549-52.

34) Andonian MH, Fahim MA. Effects of endurance exercise on the morphology of mouse neuromuscular junctions during ageing. Journal of neurocytology. 1987; 16(5):589-99.

35) Gharakhanlou R, Chadan S, Gardiner P. Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the rat. Neuroscience. 1999; 89(4):1229-39.

36) Fernandez HL, Ross GS, Nadelhaft I. Neurogenic calcitonin gene-related peptide: a neurotrophic factor in the maintenance of acetylcholinesterase molecular forms in adult skeletal muscles. Brain research. 1999; 844(1):83-97.

۳۷) ۳۷.پرنو عبد الحسین, قراخانلو رضا, هدایتی مهدی, مهدیان رضا, گرگین زینب. اثر تمرینات ترکیبی و مقاومتی بر میزان پپتید وابسته به ژن کلسی تونین در عضلات کند و تند موش بالغ نژاد ویستار. دانشور. ۱۳۸۸؛ ۱۶(۸۴):۱۱-۱.

38) Huh K-H, Fuhrer C. Clustering of nicotinic acetylcholine receptors: from the neuromuscular junction to interneuronal synapses. Molecular neurobiology. 2002; 25(1):79-112.

39) Jones MA, Werle MJ. Nitric oxide is a downstream mediator of agrin-induced acetylcholine receptor aggregation. Molecular and Cellular Neuroscience. 2000; 16(5):649-60.

40) Pilgram GSK, Potikanond S, Baines RA, Fradkin LG, Noordermeer JN. The roles of the dystrophin-associated glycoprotein complex at the synapse. Molecular neurobiology. 2010; 41(1):1-21.

41) Lück G, Hoch W, Hopf C, Blottner D. Nitric oxide synthase (NOS-1) coclustered with agrin-induced AChR-specializations on cultured skeletal myotubes. Molecular and Cellular Neuroscience. 2000; 16(3):269-81.

42) Lau Kims, Grange RW, Isotani E, Sarelius IH, Kamm KE, Huang PL, et al. nNOS and eNOS modulate cGMP formation and vascular response in contracting fast-twitch skeletal muscle. Physiological genomics. 2000; 2(1):21-7.

43) Balon TW, Nadler JL. Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. Journal of Applied Physiology. 1997; 82(1):359-63.

44) Reiser PJ, Kline WO, Vaghy PL. Induction of neuronal type nitric oxide synthase in skeletal muscle by chronic electrical stimulation in vivo. Journal of Applied Physiology. 1997; 82(4):1250-5.

45) Roberts CK, Barnard RJ, Jasman A, Balon TW. Acute exercise increases nitric oxide synthase activity in skeletal muscle. American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism. 1999; 277(2):390-4.

46) Tidball JG, Lavergne E, Lau KS, Spencer MJ, Stull JT, Wehling M. Mechanical loading regulates NOS expression and activity in developing and adult skeletal muscle. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 1998; 275(1):260-6.

47) Kobzik L, Reid MB, Bredt DS, Stamler JS. Nitric oxide in skeletal muscle. Nature. 1994; 372(6506):546-8.

48) Kuru O, Şentürk ÜK, Koçer G, Özdem S, Başkurt OK, Cetin A, et al. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic NOS inhibition. Journal of Applied Physiology. 2009; 107(3):896-902.

49) Akimitsu T, Gute DC, Korthuis RJ. Leukocyte adhesion induced by inhibition of nitric oxide production in skeletal muscle. Journal of Applied Physiology. 1995; 78(5):1725-32.

50) Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. Cell. 1994; 78(6):915-8.

ارجاع دهی به روش ونکوور

صالح‌پور مجتبی، نورشاهی مریم، خداقلی فریبا، رجبی حمید. تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مهار nNOS بر میزان پروتئین گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین عضلهٔ اسکلتی موش‌های صحرایی مسن. تابستان ۱۳۹۴؛ ۷(۲۶): ۹۶-۸۱.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

Effect of eight weeks endurance training and nNOS inhibition on skeletal muscle nicotinic acetylcholine receptors level in old rats

M. Salehpour[1], M. Nourshahi[2], F. Khodagholi[3], H. Rajabi[4]

1- PhD student at Shahid Beheshti University*
2- Associate professor at Shahid Beheshti University
3- Associate professor at Shahid Beheshti University of Medical Sciences
4- Associate professor at Kharazmi University

Received date: 2014/07/16 **Accepted date: 2014/10/12**

Abstract

The structure and function of neuromuscular junction (NMJ) changes significantly during aging and results in decrease of physical performance and sarcopenia. The purpose of this study was to determine the effect of eight weeks of endurance training and neuronal nitric oxide synthase (nNOS) inhibition on skeletal muscle nicotinic acetylcholine receptors (nAchR) in old rats. Endogenous NO production was blocked by two administering NG-nitro-L- arginine methyl ester (L-NAME) dosages (25 and 100 mg-1.kg-1.day-1) solved in drinking water. Forty eight old male Wistar rats (20 months) were randomly divided into six groups: control, LNAME25, LNAME100, endurance training with LNAME25, endurance training with LNAME100 and training. LNAME treatment began 48 hrs before exercise protocol and continued until the last day. Endurance training groups were exercised on treadmill for 8 weeks, 5 times a week and 60 minutes a day at velocity up to 28 m/min. Forty eight hours after last session of exercise training, animals were anesthetized and soleus and Extensor digitorum longus (EDL) were removed. Western Blotting analysis revealed that training increased nAchR level ($P<0.05$) and nNOS inhibition decreased it ($P<0.05$) compared to the control group. Our data showed that training groups which received LNAME (25 and 100 mg-1/kg-1/day-1), nAchR level increased significantly ($P<0.05$) compare to control group. It seems that decrease in nNOS activity during aging, could be responsible for decrease in nAchR level and NMJ weakness. Our data suggested that daily endurance training could increase nAchR level even in rats which received LNAME and NO signaling has a role in regulation of nAchR level. In general, daily training could be a suitable route to reduce sarcopenia in aged population.

Keywords: Endurance training, Neuromuscular Junction, Aging, Nitric Oxide

* Corresponding author E-mail: salehpour57@gmail.com