

مطالعه مقدماتی تاثیر مقادیر مختلف تستوسترون و تاکرولیموس در آتروفی عضله گاستروکنمیوس ناشی از آسیب تجربی عصب سیاتیک در رت

محیا جزینی درجه^۱، حمیدرضا فتاحیان^{۱*}، عباس علی آقایی^۲، محمد امین عبدالمهی^۲

چکیده

درمان آتروفی عضله پس از بازسازی عصب آسیب دیده، یکی از عمده مشکلات کلینیسین ها است. هدف این تحقیق بررسی مقادیر مختلف دو دارو در بهبودی عصب آسیب دیده و جلوگیری از آتروفی ناشی از عدم استفاده از عضلات در پی آسیب عصب سیاتیک می باشد. در این مطالعه ۲۰ سر موش صحرایی در چهار گروه پنج تایی تقسیم شدند. پس از بیهوشی و در معرض دید قرار گرفتن عصب سیاتیک، این عصب به مدت ۱۰ ثانیه با پنس تحت له شدگی قرار گرفت. سپس رت ها در گروه های تستوسترون یک (گروه یک)، تستوسترون دو (گروه دو)، تاکرولیموس یک (گروه سه) و تاکرولیموس دو (گروه چهار) قرار گرفتند و به ترتیب تستوسترون (زیرجلدی، ۵ mg/kg)، تستوسترون (زیرجلدی، ۱۰ mg/kg)، تاکرولیموس (گاوژ، ۵ mg/kg) و تاکرولیموس (گاوژ، ۱۰ mg/kg) طی ۲۸ روز تجویز شد. در روز ۲۸، موش ها به روش انسانی کشته شدند و ارزیابی های مورفومتریک و بافت شناسی انجام گردید. در ارزیابی وزن مرطوب عضله گاستروکنمیوس در گروه ۱ و ۲ از نظر آماری اختلاف معنی داری مشاهده گردید ($P < 0.05$) و این ارزیابی بین گروه ۳ و ۴ اختلاف معناداری را نشان نداد ($P > 0.05$). نتایج حاصل از میزان درجه آتروفی و فیروز بین گروه ۱ با گروه ۲ و همچنین گروه ۳ با گروه ۴ اختلاف معناداری مشاهده نگردید. پژوهشگران مطالعه حاضر مصرف مقادیر ۵ mg/kg تستوسترون و ۵ mg/kg تاکرولیموس در بازگرداندن عملکرد عصب و کاهش آتروفی پس از آسیب تجربی عصب را پیشنهاد می نمایند. **واژگان کلیدی:** عصب سیاتیک، تستوسترون، تاکرولیموس، گاستروکنمیوس

گاستروکنمیوس

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۸

مقدمه

یکی از وسیع ترین و بزرگترین بافت ها در بدن انسان و حیوان، بافت عضلات اسکلتی است که ۵۰-۴۰٪ از کل جرم و ۷۵-۵۰٪ از کل پروتئین های بدن را تشکیل می دهد (۱). این بخش از بدن منبع پروتئین است و از مهم ترین عملکردهای آن می توان به عنوان کمک کننده در تنفس، حرکت، هوموستاز گلوکز و اسیدهای آمینه و لیپیدها و ... نام برد (۲). دو نوع عضله بر اساس نوع فیبر و تنوع متابولیت آنها، وجود دارد (۱). نوع یک عضله کند، اکسیداتیو یا عضله قرمز، همانند عضله چهار سر ران می باشد و نوع دو عضله سریع، گلیکولیتیک یا عضله سفید است که عضله گاستروکنمیوس از این دسته دوم است (۱). عضله نوع دو نسبت به گرسنگی بسیار حساس می باشد ولی نسبت به عدم فعالیت حساسیت کمتری دارد و در مقایسه با عضله نوع یک، آتروفی ناشی از عدم استفاده را کندتر با سرعت کمتری نشان می دهد بگونه ای که حداقل بین ۷-۱۰ روز زمان لازم است که آتروفی عدم استفاده تظاهرات خود را نشان دهد (۳). در شرایط کاتابولیکی مانند سرطان، عفونت ها، دیابت، نارسایی بافت ها، یا عدم فعالیت و عدم استفاده منجر به تحلیل پروتئین ها، اندامک ها و سیتوپلاسم ساختار سلولی عضله می شود که در نهایت با کوچک شدن حجم سلولی آتروفی بافت عضله را رقم می زند (۱).

۱- گروه آموزشی علوم درمانگاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

hamidrezafattahian@yahoo.com

۲- گروه بیولوژی و آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

نقش حمایتی و نوروتروفیک، عاملی موثر در بهبود آسیب اعصاب شناخته شده است (۳). اما عوارض ناشی از مهار ایمنی و شناسایی مقادیر پایین موثر در روند ترمیم اعصاب با حداقل عوارض جانبی امروزه از تحقیقات پایه ای می باشد. از آنجایی که تاثیر تستوسترون و تاکرولیموس به عنوان بهبود دهنده آسیب اعصاب شناخته شده است، اما نقش هر یک به تنهایی و در مقادیر مختلف به منظور دستیابی به پایین ترین مقدار موثر با حداقل عوارض نیاز به بررسی بیشتر در بهبود ضایعه عصبی و آتروفی عضلانی پس از تروما دارد. از اینرو محققان علاوه بر یافتن داروی مناسب، در پی یافتن مقادیری مناسب از داروهایی هستند که حداکثر اثر بخشی با صرفه اقتصادی و با حداقل عوارض جانبی را متعاقب مصرف داشته باشند. در مطالعه حاضر، تغییرات مورفومتری شامل مقایسه وزن مرطوب عضله گاستروکنمیوس سمت چپ و راست و تغییرات بافت شناسی عضله گاستروکنمیوس شامل بررسی آتروفی و همچنین فیروز عضله مذکور متعاقب له شدن تجربی عصب سیاتیک و درمان دارویی با داروی تستوسترون در دو مقدار متفاوت به عنوان هورمون آنابولیک و داروی تاکرولیموس در دو مقدار متفاوت به عنوان سرکوب کننده ایمنی بررسی گردید. لذا به منظور تعیین مقادیر مناسب تجویز دو داروی تستوسترون و تاکرولیموس در جلوگیری از آتروفی عضله گاستروکنمیوس متعاقب آزدگی عصب این طرح مقدماتی اولیه مورد محک آزمون و تحقیق قرار داده شد.

مواد و روش کار

پس از دریافت کد اخلاق از کمیته اخلاق آزمایش بر روی حیوانات به شماره IR.IAU.ARB.REC.1400.072 از معاونت پژوهشی واحد علوم و تحقیقات، تعداد ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ، نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم و سن ۸ هفته از انستیتو پاستور ایران (تهران-ایران)

یکی از عوامل اصلی بیرونی ایجاد کننده ضایعه آتروفی عضلات، تروما به اعصاب محیطی می باشد و آسیب عصب سیاتیک، یکی از شایع ترین اختلالات آسیب اعصاب محیطی است که فلجی آن سبب آتروفی عضلات اندام لگنی می گردد و همچنین باعث ایجاد اختلال در خورنسانی ماهیچه ها و ناتوانی در حرکت و تغییر وضعیت اندام می گردد (۴). از آنجاییکه آسیب عصب سیاتیک بطور مستقیم در عملکرد عضلات اندام لگنی موثر می باشد، درمان آسیب های اعصاب محیطی و متعاقب آن کاهش گسترش آتروفی عضلانی از مشکلاتی است که تحقیقات همچنان در این زمینه ادامه دارد. تاکنون علاوه بر روش های جراحی از داروهای متعددی مانند هورمون های جنسی، سرکوب کننده های سیستم ایمنی، عوامل محرک رشد، مکمل درمانی، درمان محافظه کارانه نظیر فیزیوتراپی و یا سایر روش های درمانی بر روی التیام اعصاب تحقیقات پایه ای و بالینی صورت پذیرفته است، اما هنوز تردیدهایی در مورد اثربخشی قطعی آن ها و همچنین میزان مناسب دارو و یا عوارض ناشی از آن در تحقیقات وجود دارد (۵). باید در نظر داشت که عوارض جانبی و نتایج نامطلوب این عوارض در افراد نیز بستگی به نوع دارو و مقدار مورد استفاده دارد. امروزه از میان داروها، آنابولیک ها و ... هورمون های جنسی در روند ترمیم اعصاب و افزایش حجم عضله به تنهایی و یا توأمان با اثر مثبت این هورمون ها مورد توجه قرار گرفته است. بطور مثال، نشان داده شده است که تستوسترون و متابولیت های آن دو نقش متمایز در عضله و عصب دارند. نقش تستوسترون از سویی به عنوان افزایش دهنده حجم و قدرت عضلات و از طرف دیگر به عنوان افزایش دهنده تعداد آکسون و نقش آن بر روند ترمیم اعصاب آسیب دیده شناخته شده است (۶). همینطور نقش داروهای سرکوب کننده ایمنی در رد پیوند نظیر داروی تاکرولیموس بخوبی در ترمیم اعصاب شناخته شده است. تاکرولیموس با

به منظور ضد درد و آنتی بیوتیک تزریق شد. پس از ریکاوری موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه پنج تایی در هر گروه تقسیم شدند: بطوریکه گروه یک، تستوسترون (۵ میلی گرم بر کیلوگرم، زیر جلدی SC)، گروه دو، تستوسترون (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، زیر جلدی SC)، گروه سه، تاکرولیموس (۵ میلی گرم بر کیلوگرم، گاواژ خوراکی) و همچنین گروه چهار، تاکرولیموس (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، گاواژ خوراکی) را به مدت ۲۸ روز دریافت کردند. سپس موش‌ها ی هر چهار گروه در شرایط محیطی و نور ذکر شده به مدت ۲۸ روز نگهداری شدند. پس از ۲۸ روز شاخص های مورفومتری و بافت شناسی مورد بررسی قرار گرفت.

شاخص های مورفومتری:

بررسی شاخص عضلانی گاستروکنمیوس (GMI)

۲۸ روز پس از جراحی و استفاده از داروها، رت‌ها با تزریق بیش از حد داروی بیهوشی آسان کشی شدند. سپس عضله گاستروکنمیوس با دقت از اندام های چپ و راست جدا شد. وزن عضله مرطوب بلافاصله با استفاده از ترازوی دیجیتال (Sartorius، Goettingen-Germany) اندازه گیری شد. مقادیر به صورت نسبت وزن مرطوب عضله گاستروکنمیوس اندام چپ به وزن مرطوب عضله اندام راست در هر چهار گروه ثبت گردید. تمام اندازه گیری ها توسط یک ناظر بی طرف انجام گرفت (۸).

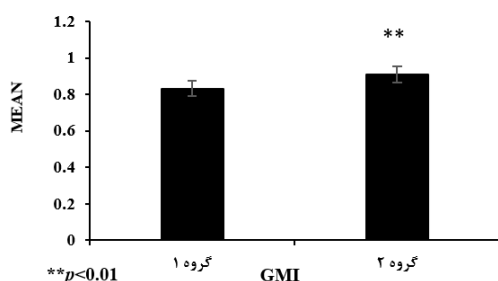
شاخص های بافت شناسی

بررسی آتروفی و فیبروز در عضله گاستروکنمیوس

سپس بافت عضله گاستروکنمیوس اندام حرکتی چپ در همه موش‌ها در گروه های چهارگانه جدا شد و در پارافین قرار داده شد و سپس توسط میکروتوم برش های ۵ میکرومتری انجام پذیرفت. برش ها با استفاده از رنگ های

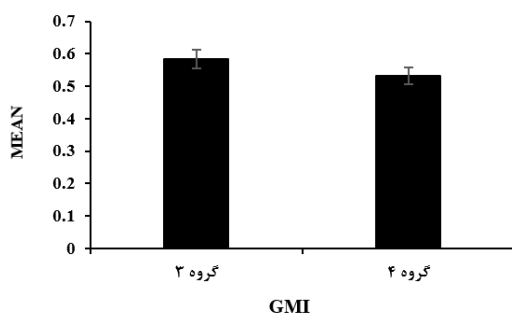
خریداری شد. سپس رت‌ها در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، با دسترسی آزاد به آب و غذا (شرکت بهپرور، تهران-ایران) و در دمای ثابت 23 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت هوای پایدار ۴۰-۵۰٪ در زیر چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعت، نگهداری شدند. رت‌ها با تزریق مدتومیدین (۹۰ میکروگرم بر کیلوگرم، عضلانی، لئون، اسپانیا) و کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم، عضلانی، واربورگ، آلمان) بیهوش شدند. سپس پای چپ جهت آماده سازی برای جراحی، تراشیده و اسکراب شد. یک برش مستقیم بر روی پوست به طول ۲ سانتی متر در قسمت جانبی ران، از ناحیه تروکانتر مازور تا زانو ایجاد گردید. سپس عصب سیاتیک اندام لگنی چپ پس از جداسازی فاسیای عضلات تحت میکروسکوپ جراحی (Topcon OMS 90، توکیو، ژاپن) در معرض دید قرار گرفت. عصب از ناحیه ۱۰ میلی متری نزدیک به محل سه شاخه شدن عصب سیاتیک با پنس هموستات ظریف استریل (Aesculap Inc، پنسیلوانیا، ایالات متحده) به پهنای ۲ میلی متر به مدت ۱۰ ثانیه له شد (۷). در محل له شدگی، یک نشانگر با بخیه نایلونی ۶-۰ (Ethicon Inc، نیوجرسی، ایالات متحده) بر روی سطح عضله دو سر ران قرار داده شد. سپس عضلات برش داده شده با بخیه پلی گلاکتین ۹۱۰، ۵-۰ (Ethicon Inc، نیوجرسی، ایالات متحده) و پوست با بخیه نایلونی ۵-۰ (Ethicon Inc، نیوجرسی، ایالات متحده) به ترتیب با الگوی بخیه ساده سرتاسری و تکی ساده بسته شد. دمای بدن موش‌ها با پد حرارتی الکتریکی حفظ شد و اکسیژن‌درمانی به کمک دستگاه بیهوشی استنشاقی (Leon plus، بدامس، آلمان) در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گردید. ملوکسیکام (1 mg/kg)، زیرجلدی، شرکت دارویی رازک، تهران، ایران) و انروفلوکساسین (10 mg/kg)، عضلانی، HIPRA، گیرونا، اسپانیا) سه روز پس از جراحی، برای همه رت‌ها به ترتیب

های یک، دو، سه و چهار به ترتیب ۰/۸۳، ۰/۹۱، ۰/۵۸ و ۰/۵۳ بود. طبق این نتایج GMI در گروه دو بیشتر از گروه یک بود که از نظر آماری اختلاف معناداری را نشان داد ($p < 0.001$) (نگاره ۱).



نگاره ۱- مقایسه میانگین‌های GMI در گروه‌های ۱ و ۲. نتایج آزمون t مستقل نشان داد GMI در گروه ۲ بطور معناداری بیشتر از گروه ۱ بود ($p < 0.001$).

نتایج آزمون t مستقل نشان داد GMI در گروه ۳ و ۴ تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند ($p > 0.05$) (نگاره ۲).



نگاره ۲- مقایسه میانگین‌های GMI در گروه‌های ۳ و ۴. نتایج آزمون t مستقل نشان داد GMI در گروه ۳ و ۴ تفاوت معناداری ندارد ($p > 0.05$).

بطوریکه ظاهر ماهیچه‌ها نشان دهنده آتروفی عضلات اندام لگنی چپ درجه دو نسبت به اندام لگنی راست، در گروه‌های دریافت‌کننده تستوسترون بود (نگاره ۳ و ۵).

هماتوکسیلین و ائوزین و همچنین ماسون تری کروم رنگ آمیزی شدند. اسلایدها در زیر میکروسکوپ نوری (Leica، DM500، Wetzlar، آلمان) مشاهده گردید. سپس میزان آتروفی عضلانی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین و همچنین ارزیابی فیبروز عضلانی در رنگ آمیزی ماسون تری کروم تحت بررسی پاتولوژی قرار گرفت. اسلایدهای رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین برای بررسی آتروفی عضلانی به درجات صفر تا سه به ترتیب عدم آتروفی، خفیف، متوسط و شدید دسته بندی شدند (۹). در رنگ آمیزی ماسون تری کروم، درجه بندی پنجگانه صفر تا چهار به ترتیب عدم فیبروز، واکنش خفیف فیبروز اطراف عضلانی، نوارهای ضخیم به راحتی قابل تشخیص، نوارهای متراکم کلاژن به خوبی توسعه یافته و در نهایت پاسخ فیبروتیک شدید جایگزین شده در نواحی وسیع، درجه بندی شدند (۱۰).

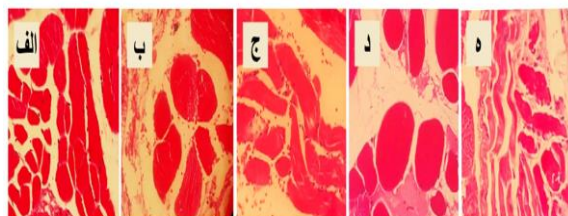
تحلیل آماری

آنالیز داد ها با استفاده نرم افزار SPSS-26 انجام شد. از روش های آمار توصیفی، میانگین، انحراف استاندارد و توزیع فراوانی با ترسیم جداول و نمودار ها استفاده گردید. تحلیل داده ها با استفاده از روش های آمار استنباطی، آزمون T مستقل و کای-اسکوایر انجام گردید. سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

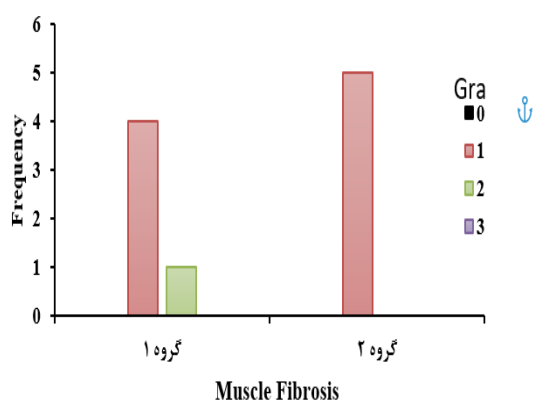
نتایج

موش‌ها پس از بیهوشی ریکاور شدند و تا پایان مدت مطالعه، زنده ماندند. هیچگونه عفونت و باز شدن بخیه‌ها در محل جراحی دیده نشد. فلجی در موش‌های تمامی گروه‌ها پس از ریکاوری از بیهوشی ثبت شد. پس از ۲۸ روز، آتروفی عضلات اندام لگنی چپ نسبت به اندام راست در حالت ایستاده به وضوح مشخص بود. نتایج ارزیابی GMI نشان داد که نسبت وزن عضله مرطوب گروه

اندام لگنی راست در هر چهار گروه در پایان مطالعه مشاهده شد (نگاره ۵).



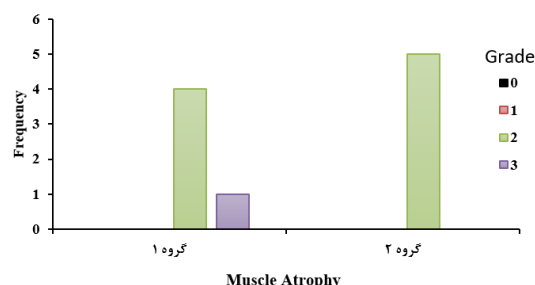
نگاره ۵: درجه بندی آتروفی در گروه های مختلف در رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین. الف: پای راست، 400X، کاهش خفیف قطر عضلات که نشان دهنده آتروفی درجه یک می باشد، قابل مشاهده است. ب: پای چپ گروه یک، 400X، درجه دو آتروفی را نشان می دهد. ج: پای چپ گروه دو، 400X، آتروفی درجه دو که نشان دهنده کاهش قطر عضلات بیش از پای راست می باشد. د: پای چپ گروه سه، 400X، آتروفی درجه سه یا همان آتروفی شدید عضلات را نشان می دهد. ه: پای چپ گروه چهار، 400X، آتروفی و دژنریشن میوفیبرها همراه با تغییرات فیبروزی شدید که آتروفی درجه سه را نشان می دهد.



نگاره ۶: توزیع فراوانی Muscle fibrosis در گروه های ۱ و ۲

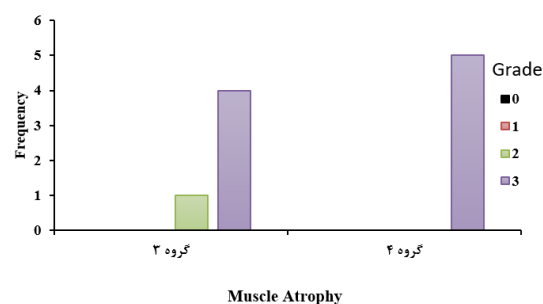
نتایج آزمون Chi-Square مستقل نشان داد بین گروه های ۱ و ۲ از نظر Muscle fibrosis تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$).

همچنین مطالعه بافت شناسی آتروفی درجه سه اندام لگنی چپ را در هر دو گروه دریافت کننده تاکرولیموس نشان داد (نگاره ۴ و ۵).



نگاره ۷: توزیع فراوانی Muscle atrophy در گروه های ۱ و ۲.

نتایج آزمون Chi-Square مستقل نشان داد بین گروه های ۱ و ۲ از نظر Muscle atrophy تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$).



نگاره ۸: توزیع فراوانی Muscl atrophy در گروه های ۳ و ۴.

نتایج آزمون Chi-Square مستقل نشان داد بین گروه های ۳ و ۴ از نظر Muscle atrophy تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$).

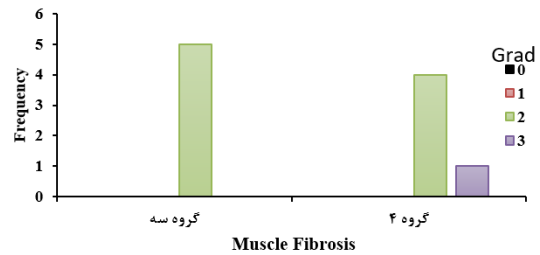
نتایج آزمون Chi-Square مستقل نشان داد که بین گروه های ۱ و ۲ و همچنین گروه های ۳ و ۴ از نظر آتروفی عضله تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$) (نگاره ۳ و ۴). از نتایج جالب دیگر این بود که آتروفی درجه یک در

($p >$ (نگاره ۶ و ۷). از نکات قابل توجه دیگر، فیبروز درجه یک در عضله گاستروکنمیوس اندام لگنی راست در هر چهار گروه دیده شد (نگاره ۸).

بحث

درمان آسیب اعصاب محیطی و متعاقب آن آتروفی عضلانی یکی از مشکلات و چالش های مورد بحث از گذشته تاکنون می باشد. مطالعه حاضر تغییرات عضله گاستروکنمیوس به دنبال له شدگی تجربی عصب سیاتیک را با ارزیابی مورفومتری و پاتولوژی به مدت چهار هفته با تجویز مقادیر مختلف داروی تستوسترون (آنابولیک) و تاکرولیموس (سرکوب کننده ایمنی)، مورد پژوهش قرار داد. در این مطالعه تاثیر مقادیر مختلف داروهای استفاده شده بر ریکاوری عضله آتروفی شده ناشی از فلجی تجربی عصب سیاتیک مورد ارزیابی قرار داده شد، تا بر اساس نتایج این مطالعه مقادیر مناسب و موثر به منظور سایر مطالعات حاصل گردد.

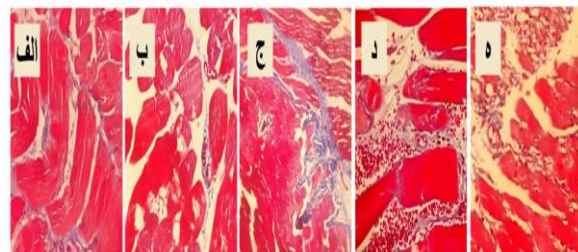
کوچکیان و همکارانشان نشان دادند که تستوسترون نقش افزایش وزن و حفظ بافت حاوی نیتروژن در موش صحرایی را بر عهده دارد و بنابراین احتباس نیتروژن بیشتر و افزایش وزن بیشتر به مقادیر بیشتر تجویز آندروژن در انسان و موش بستگی دارد (۱۱). همچنین آن ها نشان دادند که تستوسترون باعث افزایش عملکرد میتوکندری و کاهش مقاومت سلولی به انسولین و هیپرتروفی عضلات و همچنین نقش پیشگیرانه در ابتلا به دیابت در انسان دارد و اختلال در تولید تستوسترون و سطح پایین آن باعث ایجاد دیابت ملیتوس و در نهایت آتروفی عضلات می شود (۱۱). نتایج حاصل از عدم تولید انسولین در بیماران با دیابت شیرین نشان داد که فقدان و یا کمبود انسولین با ایجاد عدم تعادل در سنتز پروتئین انقباضی میوزین، اکتین، تروپونین و تروپومیزین باعث آتروفی عضلانی می شود (۱۲). در مطالعه هانسون و همکاران، متعاقب اریکتومی و کاهش سطح تستوسترون، کاهش میزان توده عضلانی و عملکرد عضلانی گاستروکنمیوس و در نهایت آتروفی آن در کوتاه مدت به دلیل عدم تحرک رخ داد (۱۳). براون و همکاران اظهار داشتند استروئید گنادوتروپیک با تسریع روند بازسازی آکسون، باعث



نگاره ۷. توزیع فراوانی Muscle fibrosis در گروه های ۳ و ۴.

نتایج آزمون Chi-Square مستقل نشان داد بین گروه های ۳ و ۴ از نظر Muscle fibrosis تفاوت معناداری وجود ندارد. ($p > 0.05$).

رنگ آمیزی ماسون تری کروم رسوب کلاژن و فیبروز درجه دو را در گروه ۳ و ۴ نشان داد (نگاره ۸) ولی میزان تشکیلات رسوب کلاژنی در گروه های ۱ و ۲ اندام لگنی چپ درجه یک بود و اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (نگاره ۸).



نگاره ۸: درجه بندی فیبروز در گروه های مختلف در رنگ آمیزی ماسون تری کروم. الف: پای راست، 100X، فیروز درجه یک را نشان می دهد. ب: پای چپ گروه یک، 400X، فیروز درجه یک را نشان می دهد. ج: پای چپ گروه دو، 100X، فیروز درجه یک را نشان می دهد. د: پای چپ گروه سه، 400X، رسوب کلاژن و فیروز درجه دو را نشان می دهد. ه: پای چپ گروه چهار، 400X، دژنره شدن میوفیبرها و فیبروز درجه ۲ مشاهده می شود.

همچنین نتایج آزمون Chi-Square مستقل نشان داد بین گروه های ۱ و ۲ و همچنین گروه های ۳ و ۴ از نظر Muscle fibrosis تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$).

با مطالعه بسرا و همکاران مطابقت داشت و اختلاف معنی داری از نظر آماری در مقادیر مختلف تستوسترون مشاهده نگردید. اخیرا مطالعات متا آنالیز نشان داده است که تاثیر استروئیدهای آنابولیک آندروژنی در افراد پیر کاملا وابسته به مقدار مصرف آن و همچنین زمان مصرف آن دارد. از اینرو در این مطالعه و با توجه به یافته های حاصل از نتایج، تفاوت معناداری بین مقادیر بالا و پایین تستوسترون در GMI دیده شده در صورتیکه اختلاف معنی داری در آتروفی عضله و رسوب کلاژن و فیبروز آن در دو گروه یک و دو مشاهده نگردید و با توجه به عوارض حاصل از این مطالعه بخصوص در آتروفی عضلانی و رسوب کلاژن و فیبروز و همچنین عوارض استفاده مقادیر بالای تستوسترون، نویسندگان این مطالعه مقدار ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را در موش صحرایی توصیه می نمایند (۱۸). تاکرولیموس به عنوان داروی سرکوب کننده ایمنی برای کاهش واکنش ایمنی بدن پس از پیوند استفاده می شود. ژنگ و همکاران در تحقیق خود در بررسی نقش تاکرولیموس بر روی ترمیم اعصاب محیطی ثابت کردند که تاکرولیموس دارای دو مکانیسم سرکوب کننده ایمنی و نوروتروفیک است (۳). تحقیقات ژنگ و همکارانش نشان داد که تجویز تاکرولیموس به مدت چهار هفته پس از جراحی، بر روی ریکاوری عضله گاستروکنمیوس آتروفی شده، اختلاف معنی داری را نسبت به سایر گروه ها نشان نداد. ژنگ و همکاران آتروفی عضلانی و کاهش قابل توجه GMI را در عضله چهارسر بیشتر از عضله گاستروکنمیوس نشان دادند (۳). سوپول و همکاران در مطالعه تجربی در سال ۲۰۱۶ یافتند که مصرف تاکرولیموس با مقدار ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بلافاصله پس از آسیب ایجاد شده روند ترمیم عصب را نوروپروتکشن را تسریع می بخشد. آن ها در مطالعه خود اثرات تاکرولیموس بر حجم عضله و بافت شناسی آن را بررسی نمودند (۲۰). در مطالعه دیگری هی و همکاران نتایج تحقیق ژنگ را تایید نکردند و میزان GMI بیشتر عضله گاستروکنمیوس را پس از دریافت تاکرولیموس در اندام لگنی با له شدگی عصب پس از گذشت چهار هفته، نشان دادند (۸). نتایج تحقیق حاضر با مطالعه ژنگ و همکاران مطابقت داشت GMI در مقادیر مختلف تاکرولیموس اختلاف معنی داری

کاهش زمان بهبودی عملکردی و افزایش تولید پروتئین های عضلات اسکلتی می شود (۱۴). مطالعه درواند و همکاران در سال ۲۰۲۴ نشان دادند که تجویز مقادیر مختلف تستوسترون در موش های صحرایی با آزدردگی تجربی عصب سیاتیک باعث کاهش روند آتروفی عضلات می گردند که البته این تفاوت در میزان آتروفی بین گروه ها از نظر آماری معنی دار نبودند (۱۵). بنابراین همانطور که در مطالعه ما و سایر مطالعات نشان داده شد، تجویز تستوسترون در موش های صحرایی با له شدگی تجربی عصب سیاتیک، پروتئین های عضله اسکلت سلولی در گروه های دریافت کننده تستوسترون را افزایش می دهد. اما این افزایش در گروه یک و دو از نظر آماری معنی دار نبود اگرچه میزان آتروفی در گروه دو نسبت به گروه یک کمتر گزارش گردید. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است مقادیر بالای تستوسترون سبب بروز مشکلات قلبی-عروقی و مغزی می گردد که افزایش هماتوکریت و ویسکوزیتی خون از علل بروز این نوع اختلالات در پی استفاده از تستوسترون با مقادیر بالا می باشد. هر چند که مکانیسم دقیق ایجاد این اختلالات تاکنون مشخص نشده است. بنابراین تستوسترون با مقادیر بالا می تواند عوارض جانبی به همراه داشته باشد که اثرات مثبت آن را در مقادیر بالا تحت الشعاع قرار می دهد. گو و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که مقدار ۵ میلی گرم بر کیلوگرم تستوسترون تاثیر منفی ای بر روی هماتوکریت موش های نر نداشته است در صورتی که عوارض مذکور در مقادیر بالاتر تستوسترون در موش های مورد مطالعه مشاهده شد (۱۶). همچنین آتروفی عضلات در گروه دریافت کننده مقادیر بالا بطور معناداری از نظر آماری ارتباطی با گروه دریافت کننده ۵ میلی گرم بر کیلوگرم نداشت (۱۶). بسرا و همکاران در سال ۲۰۱۷ اثر مقادیر مختلف تستوسترون را بر روی اختلال در عملکرد ادرار در رت های ماده عقیم شده پس از سی روز بررسی نمودند (۱۷). در این مطالعه مقدار ۵ میلی گرم بر کیلوگرم تحت نام مقدار فیزیولوژیکال و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم تحت نام مقدار بیش از فیزیولوژیکال در نظر گرفته شد. آن ها در این مطالعه اختلاف معناداری در میزان آتروفی عضلات در مقادیر مختلف تستوسترون مشاهده نکردند (۱۷). مقاله حاضر

توسط مک مستر و همکاران نشان داد که مقدار ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تاکرولیموس، نفروتوکسیسیته و افزایش فشار خون و عوارض مخرب آن بر روی سیستم قلبی-عروقی و کلیه را سبب می گردد (۱۹). گزارش ها نشان داده است که این عوارض دیابتی و قلبی نیز علاوه بر اثر مهار تاکرولیموس بر تولید انسولین و آتروفی عضلات ناشی از عدم اثر انسولین در روند هیپرتروفی سبب آتروفی عضلات اسکلتی می گردد. این عوارض با مقادیر بالای تاکرولیموس بیشتر و جدی تر می شود (۱۹).

اگرچه مطالعه حاضر ارزیابی فاکتورهای بیوشیمیایی و هماتولوژی را در پایان دوره در تحقیق خود نداشته است، اما همه موش های صحرایی در پایان دوره بدون عوارض سیستمیک زنده بودند، هرچند که در موارد مورد مطالعه گروه سه و چهار عوارض جانبی بررسی نگردید اما میزان آتروفی عضلات در گروه چهار نسبت به گروه سه بیشتر بود که البته این تفاوت از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشت. با توجه به یافته های این تحقیق، نویسندگان مقاله حاضر بر این باورند که مقدار تجویز تستوسترون و تاکرولیموس به میزان ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، نتایج رضایت بخشی را در حفظ حجم عضله گاستروکنمیوس پس از له شدگی تجربی عصب سیاتیک نسبت به گروه های ۱۰ میلی گرمی از این دو دارو به مدت ۲۸ روز با توجه به هزینه و عوارض احتمالی کمتر در موش صحرایی به همراه داشت.

تشکر و سپاسگزاری

بدینوسیله از همکارانم دکتر هستی آذرآباد و دکتر مهدی قناعت پیشه، دکتر روزبه مریدپور، دکتر موحد خوبی و دکتر حسام صالح پور به دلیل کمک هایشان در این تحقیق تشکر می نمایم.

فهرست منابع

1. Sartori R, Romanello V, Sandri M. Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy: implications in health and disease. Nature communications. 2021;12(1):330.

نشان نداد و آتروفی عضله، رسوب کلاژن و فیبروز در گروه های دریافت کننده مقادیر مختلف تاکرولیموس در اندام حرکتی چپ نسبت به اندام حرکتی راست از درجه سه برخوردار بود ولی اختلاف معناداری از نظر آماری بین دو گروه سه و چهار با یکدیگر وجود نداشت. تاکرولیموس با مهار یا پیش تولید انسولین و ایجاد مقاومت به انسولین باعث آتروفی در عضله اسکلتی می گردد (۳). بنابراین عدم جلوگیری از روند آتروفی شدن متعاقب له شدگی تجربی عصب سیاتیک در گروه های دریافت کننده تاکرولیموس (سه و چهار) از این اثر تاکرولیموس منشا می گیرد. بنابراین می توان نتیجه گرفت اثر تاکرولیموس در کاهش تشکیل فیبروز و افزایش رسوب کلاژن در هر دو مقدار در گروه سه و چهار در بازسازی عصب موثر نبوده است و در نهایت به دلیل تاخیر در روند ترمیم عصب سیاتیک، آتروفی عضلانی ناشی از عدم استفاده اندام به همراه نقش مهار تاکرولیموس بر روند هیپرتروفی عضله، کاهش آشکار GMI اندام های لگنی چپ در مقایسه با اندام های لگنی راست بود (۸). تشکیل فیبروز و رسوب کلاژن با ایجاد چسبندگی رشته های کلاژن به اپی نوریم و اختلال در هدایت تکانه های عصبی باعث عدم کارکرد اندام ها و فرآیند آتروفی ناشی از آن می شود (۳). فواید داروی تاکرولیموس در مقادیر مختلف با افزایش میزان آن افزایش نمی یابد اما با افزایش مقادیر مصرف، عوارض جانبی بیشتری را متوجه فرد می نماید. بنابراین همواره تلاش شده است که با حداقل میزان داروی تاکرولیموس و با حداقل عوارض جانبی ناشی از مقدار مصرف، نتیجه مطلوب فراهم گردد. از جمله عوارض قابل توجه مصرف تاکرولیموس بخصوص با مقادیر بالا، ابتلا به دیابت ملیتوس، نفروتوکسیسیته و عوارض قلبی-عروقی از جمله انفارکتوس میوکاردیت، انفارکتوس ناشی از هایپرتروفی و میوکاردیت حاد می باشد. مطالعات نشان دادند که تجویز تاکرولیموس با مقدار ۵ و ۱۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با انقباض عروق گلوامرولی، کاهش جریان خون کلیوی، کاهش GFR و اختلال در لایه اندوتلیال عروق کلیوی و افزایش کراتینین می شود که باعث عوارض کلیوی در گروه دریافت کننده مقادیر بالای تاکرولیموس نسبت به مقادیر پایین می گردد. مطالعه ای مشابه

- Langer HT, Senden JM, Gijssen AP, Kempa S, Van Loon LJ, Spuler S. Muscle atrophy due to nerve damage is accompanied by elevated myofibrillar protein synthesis rates. *Frontiers in physiology*. 2018;9:1220.
3. Zheng C, Wang C, Zhang T, Li D, Ni X-f, Lin J-H, et al. Exploring the Mechanism of Skeletal Muscle in a Tacrolimus-Induced Posttransplantation Diabetes Mellitus Model on Gene Expression Profiles. *Journal of diabetes research*. 2020;2020(1):6542346.
4. Kadi F. Cellular and molecular mechanisms responsible for the action of testosterone on human skeletal muscle. A basis for illegal performance enhancement. *British journal of pharmacology*. 2008;154(3):522-8.
5. Faroni A, Mobasser SA, Kingham PJ, Reid AJ. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. *Advanced drug delivery reviews*. 2015;82:160-7.
6. Monaco GN. Effects of electrical stimulation and testosterone in translational models of peripheral nerve injury: Loyola University Chicago; 2013.
7. Sun W, Sun C, Lin H, Zhao H, Wang J, Ma H, et al. The effect of collagen-binding NGF- β on the promotion of sciatic nerve regeneration in a rat sciatic nerve crush injury model. *Biomaterials*. 2009;30(27):4649-56.
8. He X-z, Ma J-j, Wang H-q, Hu T-m, Sun B, Gao Y-f, et al. 脑损伤联合他克莫司促进损伤周围神经的修复. *中国神经再生研究 (英文版)*. 2017;12(6):987.
9. Abdou MA, Kim G-E, Kim J, Kim B-H, Kim Y-K, Jeong S-E, et al. How long should we wait to create the Goutallier stage 2 fatty infiltrations in the rabbit shoulder for repairable rotator cuff tear model? *BioMed research international*. 2019;2019(1):7387131.
10. Sannad A, Tamgadage S, Tamgadage A, Yadav K, Giri A, Wankhede M. Total serum protein estimation and its correlation with clinical and histopathological grading using masson's trichrome stain in patients of oral submucous fibrosis. *Contemporary clinical dentistry*. 2017;8(2):286-92.
11. Kochakian CD. Comparison of protein anabolic property of various androgens in the castrated rat. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1949;160(1):53-61.
12. Trierweiler H, Kisielewicz G, Hoffmann Jonasson T, Rasmussen Petterle R, Aguiar Moreira C, Zeghibi Cochenski Borba V. Sarcopenia: a chronic complication of type 2 diabetes mellitus. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2018;10:1-9.
13. Hanson ED, Betik AC, Timpani CA, Tarle J, Zhang X, Hayes A. Testosterone suppression does not exacerbate disuse atrophy and impairs muscle recovery that is not rescued by high protein. *Journal of Applied Physiology*. 2020;129(1):5-16.
14. Brown TJ, Khan T, Jones KJ. Androgen induced acceleration of functional recovery after rat sciatic nerve injury. *Restorative neurology and neuroscience*. 1999;15(4):289-95.
15. Derwand D, Zierau O, Thieme D, Keiler AM. Up to the maximum—testosterone dose-dependent effects on anabolic and androgen responsive tissues in orchietomized rats. *Andrology*. 2024;12(1):231-40.
16. Guo W, Bachman E, Vogel J, Li M, Peng L, Pencina K, et al. The effects of short-term and long-term testosterone supplementation on blood viscosity and erythrocyte deformability in healthy adult mice. *Endocrinology*. 2015;156(5):1623-9.
17. Bonilla-Becerra SM, de Oliveira MG, Calmasini FB, Rojas-Moscoco JA, Zanesco A, Antunes E. Micturition dysfunction in four-month old ovariectomized rats: effects of testosterone replacement. *Life sciences*. 2017;179:120-9.

18. Couch B, Hayward D, Baum G, Sakthiyendran NA, Harder J, Hernandez EJ, et al. A systematic review of steroid use in peripheral nerve pathologies and treatment. *Frontiers in Neurology*. 2024;15:1434429.
19. Figueroa SM, Bertocchio J-P, Nakamura T, El-Moghrabi S, Jaisser F, Amador CA. The mineralocorticoid receptor on smooth muscle cells promotes tacrolimus-induced renal injury in mice. *Pharmaceutics*. 2023;15(5):1373.
20. Özsoy U, Yıldırım FB, Demirel BM, Hızay A, Sarıkcıoğlu L, Demir N, et al. Effect of FK506 administration in alpha motor neurons after primary and delayed repair of the sciatic nerve. *Anatomy*. 2016;10(1):30-9.