



مروری بر اثرات تمرینات ورزشی بر اتصال عصبی - عضلانی در طول زندگی: تجزیه و تحلیل منطقی مطالعات تجربی حیوانات

محمود جعفری: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

اکبر قلاوند: دکتری فیزیولوژی ورزشی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد کودکان، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران. (* نویسنده مسئول) akbarghalavand@gmail.com

حمید رجبی: استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

ندا خالدی: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

پژمان معتمدی: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

اتصال عصبی - عضلانی،
فعالیت بدنی،
تمرینات ورزشی

زمینه و هدف: اتصال عصبی - عضلانی تحت تأثیر مراحل مختلف رشد و تغییرات محیطی مانند شرایط پاتولوژیک و همچنین شرایط فیزیولوژیک مانند تمرینات ورزشی تغییر می‌کند. هدف این مطالعه بررسی سیستماتیک در خصوص اثرات تمرینات ورزشی بر اتصال عصبی - عضلانی و بیماری‌های مرتبط با آن در زندگی حیوانات جوان، بالغ و پیر است.

روش کار: در این مقاله مروری مقالات ارائه شده در خصوص اثر تمرینات ورزشی بر اتصال عصبی - عضلانی در پایگاه‌های الکترونیکی مورد بررسی قرار گرفت. از مقالات مورد بررسی، ۱۰۹ مقاله برای تجزیه و تحلیل ابتدایی چکیده‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. از بین مقالات، ۲۶ مقاله انتخاب شدند و در نهایت ۱۱ مقاله برای بررسی سیستماتیک مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: در خصوص اثر تمرین بر بخش پیش سیناپسی نتایج نشان دادند تمرینات استقامتی موجب هیپرتروفی بخش پیش سیناپسی شامل افزایش مساحت، طول، مساحت کلی و پیچیدگی اتصال عصبی - عضلانی شد. بخش پس سیناپسی تغییرات مشابهی با روند تغییرات پیش سیناپسی نشان دادند. اگرچه این تغییرات بیشتر به نوع تمرین وابسته می‌باشند. فرایند پیر شدن به‌طور طبیعی همراه با سازگاری‌های مختلفی در اتصال عصبی - عضلانی بود و تمرینات ورزشی طول عمر را افزایش می‌دهند و همچنین موجب متراکم‌تر شدن ساختار اتصال عصبی - عضلانی و کیفیت عملکردی آن در سنین بالا می‌شود.

نتیجه‌گیری: در کل یافته‌های تحقیق نشان داد که بخش‌های مختلف اتصال عصبی - عضلانی تحت تأثیر مراحل مختلف رشد و شرایط پاتولوژیک مانند نوع بیماری و یا آسیب می‌باشد و تمرینات ورزشی می‌تواند نقش موثری بر بهبود کیفیت ساختاری و عملکردی اتصال عصبی - عضلانی داشته باشد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه‌استناد به این مقاله:

Jafari M, Ghalavand A, Rajabi H, Khaledi N, Motamedi P. A review of the effect of exercise training on neuromuscular junction in throughout life: A logical analysis of animal experimental studies. Razi J Med Sci. 2021;28(3):37-47.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) صورت گرفته است.

Review Article

A review of the effect of exercise training on neuromuscular junction in throughout life: A logical analysis of animal experimental studies

Mahmood Jafari: PhD Student of Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

Akbar Ghalavand: PhD in Exercise Physiology, Pediatric Gastroenterology and Hepatology Research Center, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran (* Corresponding author) akbarghalavand@gmail.com

Hamid Rajabi: Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

Neda Khaledi: Asistance Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

Pezhman Motamedi: Asistance Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Neuromuscular junction is a synaptic junction in which motor neurons are connected to muscle fibers. Neuromuscular junction is a complex structure that changes under the influence of various stages of development as well as environmental changes such as pathological conditions and genetic and non-genetic diseases and physiological conditions such as physical activity and exercise training. During about a first third of life, the growth of the nervous system naturally promotes an increase in strength and muscle mass. However, with age, the function of the nervous system also slowly decreases. Neuromuscular junction is one of the structures that are damaged due to aging processes. Neuromuscular junction are important for understanding the basic concepts, diagnosis and treatment of atrophy and reduction of muscle mass. An active lifestyle is particularly important for understanding the function of neuromuscular junctions in changes in muscle mass and their application in clinical settings. Exercise training and physical activity as a metabolic and neuromotor stress can improve the overall function of the neuromuscular junction by improving neuromuscular signaling, and improving muscle function, a factor known to aid growth. Exercise training leads to impressive changes in the neuromuscular junction of young and old animals. However, large studies aimed at investigating these effects have introduced methodological variables that show effects on the results under study. Therefore, the aim of this study was to systematically investigate the effects of exercise training on neuromuscular junction and related diseases in the lives of young, adult and old animals.

Methods: In this systematic review article, the results of articles presented on the effect of exercise on neuromuscular junction in Google Scholar, Web of science, PubMed databases, which included five thousand article titles, were reviewed and analyzed. In this study, two independent evaluators, WKN and EFG, reviewed all titles during the analysis. Then, the abstracts of the articles were evaluated using PRISMA. Of the articles reviewed, 109 articles were used for the initial analysis of chicks. The selection criteria were such that the abstract of the article should have sufficient data on the parameters of the neuromuscular junction components, the animals studied as well as the therapies, and the measures used in these studies. Among the articles, 26 full-text articles were analyzed and among these 26 articles, 11 articles were used for systematic review. The results of the study showed that the breeds of animals used in the selected articles were rodents including SD (Sprague Dawley) rats, Fisher rats, Vistar rats and

Keywords

Neuromuscular junction,
Physical activity,
Exercise training

Received: 01/03/2021

Published: 26/05/2021

C57BL / 6NNia rats. In terms of age and gender, all articles provided information on the effects of exercise on the neuromuscular components of both young and adult animals. Among these articles, four articles examined the effects of exercise on the parameters of neuromuscular connection and in all studies, male animals were used. Most of the exercises used in the research were endurance exercises. Only two articles were done on strength training. The duration of the training intervention in the research varied from 6 weeks to 15 weeks. The number of training sessions was 5 times a week. None of the articles examined seasonal exercise to prescribe exercise intensity.

Results: Regarding the effect of training on the presynaptic part, the results showed that endurance training caused hypertrophy of the presynaptic part, including area, length, total area and complexity of neuromuscular connection. Endurance training had an effect on the morphological adaptation of the neuromuscular junction in muscles such as the soleus muscle and to a lesser extent in the long toe extensor muscles of the gluteus maximus as well as the soleus muscle. Most of the results obtained from the systematic study showed that in some of the analyzed parameters such as mean and total branch length as well as branch complexity, there are high levels of heterogeneity. The results also showed that endurance training did not have a significant effect on the postsynaptic sections of slow-acting neuromuscular fibers. However, many changes were observed in fast-twitch fibers. In addition, the analysis shows the general effects of an increase in the overall environment and end-plate dispersion as well as a decrease in the drug spot environment before and after synaptic mating of fast-twitch myofibers. The whole postsynaptic section showed similar changes to the process of presynaptic changes. Although they were more dependent on the type of exercise provided. In endurance training, for example, it reduced the spotty environment of slow-fiber neuromuscular junction in the soleus muscles, while not showing morphological compatibility with strength training. Regarding the effect of aging on neuromuscular connection, the results showed that the aging process is naturally associated with various adaptations in neuromuscular connection. Exercise also increases longevity and also strengthens the structure of the neuromuscular junction in old age. Studies in young and old animals during exercise have shown that adaptations that occur in the structure of the neuromuscular junction may vary with age. Exercise can be positively involved in the up regulation of genes and the protein expression of several molecules and growth factors. Physical activity and exercise naturally increase the expression of growth factor such as neurotrophic factors which can effecting on quality of function an Structure of neuromuscular junction.

Conclusion: In general, the research findings showed that the neuromuscular junctions, including presynaptic and postsynaptic, as well as its morphological structure are affected by different developmental stages and undergo changes during development from embryonic to old age. Also, pathological conditions such as the type of disease or injury can cause changes in the structural components of the neuromuscular junction, which ultimately lead to changes in the quality of motor function. Also, exercise can play an effective role in improving the structural and functional quality of the neuromuscular junction. Therefore, regular exercise can be a preventive method in old age and its negative effects on muscle mass and motor function, which is created by improving neuromuscular connections. Due to the difference in results between aerobic and resistance training methods, more research is needed by applying the main variables of training, including training intensity, training volume, etc. for better conclusions in this regard.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Jafari M, Ghalavand A, Rajabi H, Khaledi N, Motamedi P. A review of the effect of exercise training on neuromuscular junction in throughout life: A logical analysis of animal experimental studies. *Razi J Med Sci.* 2021;28(3):37-47.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

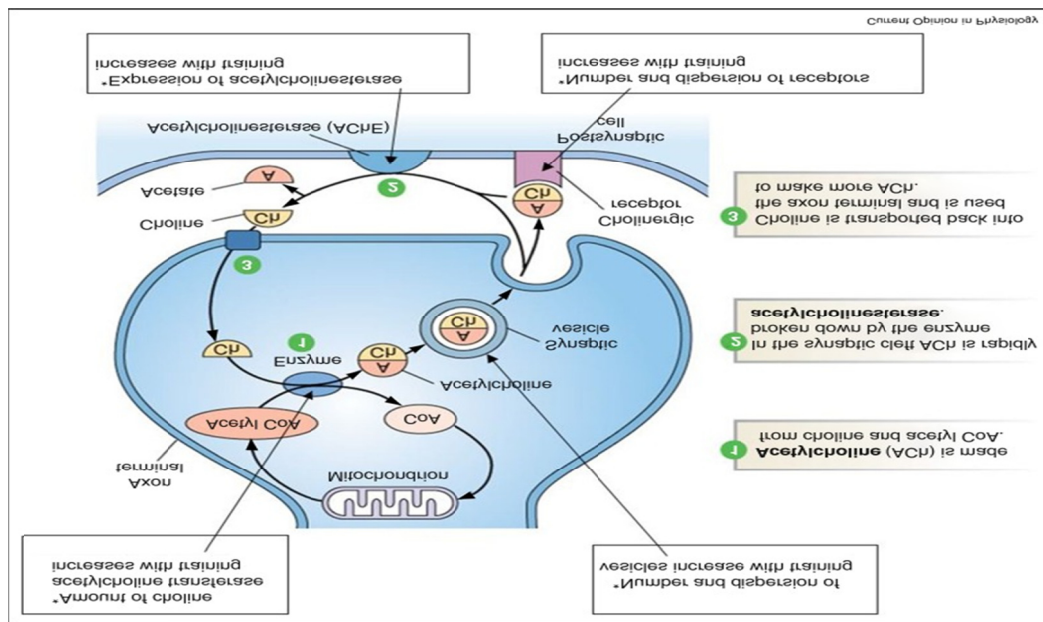
مقدمه

ارتباط عضلانی و عصبی در سطح یک ناحیه خاص، یعنی اتصال عصبی-عضلانی، یک اتصال سیناپسی است که در آن امکان ارتباط بین سیستم عصبی محیطی با تارهای عضلات اسکلتی فراهم می‌شود (۱). اتصال عصبی-عضلانی یک ساختار پیچیده است که برای برقراری ارتباط مؤثر ایمپالس الکتریکی از نورون حرکتی به عضله اسکلتی به عنوان پیام انقباض می‌باشد. در طول ۲۰۰ سال گذشته، با پیشرفت‌های فناوری در ابزار تحقیق امکان بررسی اتصال عصبی-عضلانی، فراهم آمده است و موجب شناسایی استیل کولین به عنوان یک ملکول پیام رسان شیمیایی فراهم آمده است (۲، ۳)؛ تجزیه و تحلیل فراساختاری وزیکول‌های موجود در پایانه عصب پیش سیناپسی را شناسایی شده و یک ارتباط ساختاری برای ماهیت کمی انتقال عصبی و عضلانی فراهم می‌کند و تصویربرداری از چین‌های سیناپسی روی سطح عضله داربست پروتئین زیرین را نشان می‌دهد (۳). تجزیه و تحلیل مولکولی بیان ترجیحی پروتئین‌های سیناپسی را تأیید کرده است که توسط یک برنامه پیشرفته دقیق هدایت می‌شود و توسط سیگنال‌های عصبی حفظ می‌شود. سلول‌های شوان موجب پوشش اتصال عصبی-عضلانی و لایه بازال می‌شوند و در حفظ اتصال عصبی-عضلانی بسیار مهم هستند (۳).

یکی از عوامل مؤثر بر ساختار ریخت‌شناسی و شکل‌پذیری اتصال عصبی-عضلانی مراحل رشد می‌باشد که به‌طور طبیعی با افزایش سن دستخوش تغییر می‌شود. داده‌های تجربی کسب شده تراکم بیشتری در اتصال عصبی-عضلانی برای موش‌های جوان نسبت به موش‌های بالغ نشان می‌دهند (۴). با رسیدن سن موش‌ها از جوانی به پیری، فیبر عضلات اسکلتی از وضعیت چند عصبی به وضعیت غیر عادی اتصال عصبی-عضلانی یا فیبر عضلانی تغییر پیدا می‌کنند. با گذشت زمان عملکرد سیستم عصبی به صورت آرام و مداوم کاهش می‌یابد (۵). در سنین بالا، اتصال عصبی-عضلانی روند قطع عصب را آغاز می‌کند که منجر به عملکرد جبرانی هیپرتروفی می‌شود (۶، ۷). این مکانیزم به‌طور طبیعی اقدامی برای پیشگیری از قطع عصب فیبرهای عضلانی و فرایند آپوپتوز یا مرگ

برنامه‌ریزی شده سلول است. بعلاوه، این روند ممکن است موجب بیماری ساکروپنیا شود (۷، ۸). چندین استراتژی به منظور متوقف کردن و یا معکوس کردن روند بیماری ساکروپنیا و همچنین کاهش توان عضلانی به دلیل افزایش سن مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند (۹). اگرچه، یکی از استراتژی‌هایی که بیشترین استفاده را داشته است و بیشترین تحقیقات بر روی آن انجام گرفته است فعالیت بدنی و تمرینات ورزشی می‌باشد (۱۰، ۱۱) تمرینات ورزشی را می‌توان به عنوان فعالیت بدنی که به صورت زمان‌بندی شده در خانه و یا در مکان‌های ورزشی انجام می‌گیرند در نظر گرفت. رابطه بین انجام فعالیت بدنی و اتصال عصبی-عضلانی برای مدت‌های طولانی و از قرن پیش مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است. ورزش کردن می‌تواند به اتصال عصبی-عضلانی کمک کند و از طرف دیگر این موضوع می‌تواند به رشد و توسعه ظرفیت‌های عملکردی هم انسان‌های جوان و مسن و همچنین حیوانات کمک کند؛ اثبات این موضوع به وضوح توسط نیشیمون توضیح داده شده است (۱۲). نتیجتاً این نوع مداخله برای اطمینان حاصل کردن از اینکه شرایط عملکردی فیزیکی در طول زمان حفظ می‌شود بسیار حائز اهمیت است. جدای اطلاعات قبلی در مورد کاربرد ورزش بر اتصال عصبی-عضلانی، مطالعات زیادی وجود دارند که روش‌های آزمایشگاهی، عضلات اسکلتی، پروتکل تمرین و انواع ورزش را مورد تجزیه و تحلیل قرار داده‌اند. تفاوت در روش‌ها ممکن است منجر به نتایج متناقض، گیج‌کننده و متفاوت شوند.

مولکول‌های زیادی وجود دارند که برای کمک به سازگاری اتصال عصبی-عضلانی با ورزش پیشنهاد شده‌اند. در همین خصوص نیشومه و همکارانش گزارش کردند که مولکول‌های همچون نوروگلین-۱، گیرنده فعال کننده تکثیر پروکسی زوم گاما هم فعال ساز آلفا، فاکتور رشد شبه انسولین، عامل. نروتروفیک مشتق از سلول گلیال نروتروفین-۴ و دیگر مولکول‌ها، سازگاری فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی اتصال عصبی-عضلانی به ورزش را تحریک می‌کنند (۱۲). یکی از آنزیم‌های مهم که انتقال عصبی و عضلانی مؤثر را فراهم می‌کند استیل کولین استراز (AChE) است. این آنزیم در صفحه



شکل ۱- نحوه عملکرد استیل کولین استراز (AChE) در محل اتصال عصبی عضلانی و نمونه‌هایی از سازگاری‌های زیر سیناپسی ناشی از تمرینات ورزشی (۱۳).

قدرت ایستا و پویا نشان می‌دهند (۱۷-۱۹). در حال حاضر، مقالات بالینی از بررسی‌ها و فرا تحلیل‌های سیستماتیک برای شناسایی تفاوت‌های روش‌شناختی ممکن در مطالعات، کیفیت مطالعات انجام شده بر روی یک موضوع مشخص و مناسب‌ترین اقدامات برای یک درمان مشخص استفاده می‌کند؛ بنابراین، هدف این مقاله انجام یک بررسی گسترده و سیستماتیک در خصوص اثرات تمرینات ورزشی بر اتصال عصبی-عضلانی و بیماری‌های مرتبط آن در زندگی است.

روش کار

برای بررسی اینکه آیا ورزش اثرات منفی بر اتصال عصبی-عضلانی دارد یا خیر، جستجویی که شامل پنج هزار عنوان مقاله بود انجام شد. دو ارزیاب مستقل به نام‌های WKN و EFG تمامی عنوان‌ها را در طول تجزیه و تحلیل می‌خوانند. سپس با استفاده از PRISMA چکیده‌های مقاله‌ها ارزیابی شدند (۲۰). از بین تمامی مقاله مورد بررسی ۱۰۹ مقاله برای تجزیه و تحلیل ابتدایی چکیده‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. شرایط این‌گونه تعیین شد که چکیده مقاله باید

انتهایی پس سیناپسی در مجاورت نزدیک با گیرنده‌های استیل کولین متمرکز شده است (۱۳). بخشی از سازگاری‌های کسب شده از تمرینات ورزشی در اتصال عصبی-عضلانی است که در طولانی مدت موجب بهبود تحمل خستگی عضلات به علت تغییرات استیل کولین (پیامرسان شیمیایی در اتصال عصبی-عضلانی) و AChE متعاقب تمرینات ورزشی می‌باشد (۱۴). سازگاری‌های فیزیولوژیکی اتصال عصبی-عضلانی نسبت به تمرینات ورزشی را می‌توان در شکل ۱ مشاهده کرد (۱۳).

اگرچه، در این باره اطلاعات بیشتری مورد نیاز است و ممکن است مکانیسم‌های بیشتری نقش داشته باشند. در بسیاری از موارد عنوان شده است که استفاده از ورزش می‌تواند منجر به معکوس شدن بسیاری از اثرات مضر افزایش سن شود که با افزایش سن فعالیت‌های فیزیکی و همچنین کیفیت زندگی مردم بخصوص سالمندان کاهش می‌یابد (۱۵، ۱۶). شکلی از ورزش که اغلب برای مقابله با زوال وضعیت جسمانی افراد مسن مورد استفاده قرار می‌گیرد تمرین‌های قدرتی هستند. به این دلیل که گفته می‌شود افراد کم‌تحرك با سن بیشتر از ۷۰ سال حدود ۳۵ تا ۵۹ درصد کاهش در

Maximus) و همچنین عضله کف‌پایی یا عضله پلانتاریس (plantaris) را مورد تحلیل قرار دادند. تنها یک مقاله وجود داشت که نتایج به وضوح مشابهی را بین عضلات سولئوس و EDL نشان دادند، گرچه مطالعات دیگری وجود دارند که این موضوع را نشان ندادند. یک مقاله وجود دارد که به وضوح نشان می‌دهد که اتصال عصبی-عضلانی با توجه به نوع فیبر عضلانی به‌طور متفاوتی با تمرینات سازگار شد.

بخش پیش سیناپسی

اکثر مقالاتی که تجزیه و تحلیل شدند طی انجام فرایند تحلیل و بررسی نشان دادند که تمرینات استقامتی موجب هیپرتروفی بخش پیش سیناپسی شدند. مطابق با یافته‌های دیشتر و همکارانش (۲۱)، تغییرات پروفایل تار عضلانی، به عنوان مثال افزایش تار عضلانی هیچ ربطی به اندازه اتصال عصبی-عضلانی ندارد. نتایج متفاوتی که در اینجا مورد بحث قرار گرفته‌اند نقل‌قول‌هایی در رابطه با افزایش مساحت، طول، مساحت کلی و پیچیدگی عضله سولئوس شده است. عضله سولئوس به‌طور طبیعی در درجه اول فرسایشی توصیف می‌شود و دارای ویژگی‌ها و خصوصیات کیفی است (۲۲). دیشتر و همکارانش (۲۱) برخی از تغییرات مهم بر روی عضلات همچون افزایش تعداد و طول شاخه‌های ترمینال اتصال عصبی-عضلانی در فیبر عضله‌ای سولئوس نوع ۱ را توصیف کردند. بنابراین، کاملاً مشخص است که در مطالعاتی که برای بررسی اثرات تمرینات ورزشی نوع عضله به عنوان برخی از روش‌های مطلوب به حساب آورده شده است. از طرف دیگر، به نظر می‌رسد که انجام تمرینات قدرتی به هیچ عنوان موجب تغییراتی در مولکول‌های بخش پیش سیناپسی مشابه با تغییرات ایجاد شده هنگام انجام تمرینات استقامتی نمی‌شوند. احتمالاً، توضیح بیشتر این مسئله با نتایج بدست آمده از حرکات عملی عضله سولئوس در طول انجام تمرینات استقامتی و قدرتی ممکن است.

همانطور که مشاهده شد، تمرینات استقامتی یا تمرینات اجباری بر سازگاری ریخت‌شناسی اتصال عصبی-عضلانی در عضلاتی همچون عضله سولئوس و به میزان کمتری عضلات نعلی باز کننده طویل

داده‌های کافی در مورد پارامترهای اجزای اتصال عصبی-عضلانی، حیوانات مورد مطالعه و همچنین درمان‌ها و اقداماتی که در این مطالعات مورد استفاده قرار گرفته‌اند را داشته باشد. از بین تمامی مقالات، ۲۶ مقاله دارای متن کامل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و از بین این ۲۶ مقاله ۱۱ مقاله برای بررسی سیستماتیک مورد استفاده قرار گرفتند. در پایین مواردی را مشاهده می‌کنید که طی روند بازرسی تایید آن‌ها را مورد بررسی قرار دادیم:

۱. نژاد حیوان: در مقالات انتخاب شده نژاد جوندگان شامل موش صحرایی (رت) نژاد SD Sprague Dawley، موش‌های صحرایی نژاد فیشر ۳۴۴، موش صحرایی ویستارو موش نژاد C57BL/6NNia بودند.
۲. سن و جنسیت حیوان: تمامی مقالات اطلاعات در مورد اثرات ورزش بر اجزای اتصال عصبی-عضلانی هم حیوانات جوان و هم بالغ را ارائه کرده‌اند. از بین این مقالات چهار مقاله بودند که اثرات ورزش بر پارامترهای اتصال عصبی-عضلانی را بررسی کردند، تمامی مطالعات از حیوانات نر استفاده کردند.
۳. نوع ورزش‌های انجام شده: اکثر ورزش‌های انجام شده در مقالات از نوع تمرینات استقامتی بودند. تنها دو مقاله در رابطه با تمرینات قدرتی بودند.
۴. پارامترهای تمرینی: پارامترهای مورد استفاده از ۶ تا ۱۵ هفته متفاوت بودند. تمرینات ۵ بار در هفته انجام شدند. مقالاتی که تمرینات استقامتی را مورد مطالعه قرار دادند هیچ کدام از مقالات تمرینات فصلی را مورد بررسی قرار ندادند تا شدت تمرینات را تجویز کنند.

بحث

اثرات ورزش بر اجزای اتصال عصبی-عضلانی: حیوانات جوان و بالغ

بخش‌های پیش سیناپسی، اکثر مطالعات از عضله سولئوس استفاده کردند، و مشاهده شد که تمرینات استقامتی پایانه عصبی، طول و همچنین پیچیدگی ترمینال عصبی را افزایش دادند. اگرچه، مشخص شد که تغییرات ممکن است با توجه به عملکرد و همچنین کیفیت نوع عضله متفاوت باشند. سه مطالعه وجود داشت که عضلات مختلف شامل عضلات نعلی باز کننده طویل انگشتان (EDL)، سرینی بزرگ (Gluteus)

نشان دادند که در تمرینات استقامتی محیط لکه‌دار اتصال عصبی-عضلانی فیبرهای آهسته در عضلات سولئوس را کاهش می‌دهد درحالی‌که سازگاری مورفولوژیکی با تمرینات قدرتی را نشان نمی‌دهد.

اتصال عصبی-عضلانی پیر

تمامی موجودات زنده به‌طور ذاتی پیر می‌شوند. با افزایش سن تغییرات مختلفی در سیستم‌های فیزیولوژیکی بوجود می‌آیند و این امر اثرات منفی را بر توان عملکردی افراد می‌گذارد (۵، ۲۵). فرایند پیر شدن به‌طور طبیعی همراه با سازگاری‌های مختلفی در اتصال عصبی-عضلانی می‌باشد (۲۶). این روندها به‌منظور اطمینان حاصل کردن از اینکه فرایندهای قطع عصب و عصب رسانی دوباره موازنه هستند، بسیار مهم هستند. همچنین مشاهده شد که در حیوانات و انسان‌های پیرتر، روندهای قطع عصب موجب متوقف شدن عصب رسانی دوباره می‌شوند که این امر موجب از دست رفتن مداوم واحدهای حرکتی و در نتیجه ضعف عضلانی می‌شود؛ بنابراین، انجام اقداماتی برای جلوگیری از روندهای قطع عصب که به دلیل افزایش سن ایجاد می‌شوند بسیار حائز اهمیت است. گیلون و همکاران در تحقیقشان نشان دادند که سن بالا باعث انحطاط عصبی و عضلانی، از بین رفتن موتورنورون‌ها و کاهش سطح ایمنی از پروتئین‌های انتقال نوکلئوپلاسمیک کلیدی می‌شود؛ و تمرینات ورزشی مانع از این تغییرات می‌شود و در موش‌های مسن فعال مرگ موتورنورون‌ها کمتر است و موجب بهبود مورفولوژی اتصالات عصبی-عضلانی و حفظ پروتئین‌های کلیدی انتقال نوکلئوپلاسمیک در موتورنورون‌ها می‌شوند (۲۷). در مقایسه اتصال عصبی-عضلانی موش‌های مسن نسبت به موش‌های جوانتر، در بخش پیش سیناپسی فاصله و جوانه زدن غیرطبیعی را نشان می‌دهد. پراکندگی شاخه‌های پایانه به برخی از مناطق، همراه با افزایش بازسازی مشاهده شد. تجزیه و تحلیل میکروسکوپ الکترونی نشانگر مناطقی از فاصله غیر طبیعی، پیچیدگی، کاهش ۳۰ درصدی در ناحیه پایانه عصبی، کاهش ۷۴ درصدی در تراکم وزیکول سیناپسی، افزایش ۲۲۵٪ در تعداد وزیکول‌های روکش‌دار، افزایش ۵۲٪ در عرض سیناپسی شکاف و پیوستگی اندامک‌های اسکلت سلولی

انگشتان، گلوئوس ماکسیموس و همچنین عضله کف‌پایی اثر گذاشته‌اند. دیشنز و همکارانش (۲۱، ۲۳) به وضوح کاهش در متوسط طول شاخه ترمینال عصبی مربوط به اتصال عصبی-عضلانی در فیبرهای آهسته و همچنین افزایش در تعداد شاخه‌های اتصال عصبی-عضلانی در فیبرهای تند انقباض عضله سولئوس را نشان دادند.

اکثر نتایجی که از بررسی سیستماتیک بدست آمد، نشان داد که در برخی از پارامترهای تحلیل شده همچون میانگین و کل طول شاخه و همچنین پیچیدگی شاخه سطوح بالایی از عدم تجانس وجود دارد.

بخش پس سیناپسی

مطابق با گفته‌های دیشنز (۲۱، ۲۳)، به نظر می‌رسد که به دلیل فیبرهای آهسته عضله سولئوس و پلانتریس تفاوتی در رابطه با سازگاری اتصال عصبی-عضلانی وجود دارد. بعلاوه، وی عنوان می‌کند که ویژگی‌ها معکوس متناسب با سازگاری‌های موجب شده هستند. وی نشان داد که افزایش‌ها در مساحت و محیط صفحه انتهایی (End plate) سولئوس را نشان داد، در حالیکه همین پارامترها به‌طور معکوس در عضله پلانتریس کاهش یافتند (۲۴). مشخص شد که نوع تمرین نیز روی سازگاری ریخت‌شناختی اتصال عصبی-عضلانی اثر دارد. تمرینات استقامتی باعث ایجاد اکثر تغییرات در اتصال عصبی-عضلانی فیبر آهسته برای هر دو عضله اسکلتی شدند. با وجود اینکه این تحلیل توسط فرا تحلیلی که بعداً انجام شد، رد شد، نتایج نشان می‌دهند که تمرینات استقامتی اثر چشمگیری بر بخش‌های پس از سیناپسی فیبرهای آهسته اتصال عصبی-عضلانی نگذاشته‌اند. اگرچه تغییرات بسیاری در فیبرهای تند انقباض مشاهده شد. بعلاوه، تجزیه و تحلیل اثرات کلی افزایش در محیط کلی و پراکندگی صفحه انتهایی و همچنین کاهش در محیط لکه دار و جفت‌سازی پیش تا پس از سیناپسی میوفیبرهای تند انقباض را نشان می‌دهد. روندهای پس سیناپسی تغییرات مشابهی با روندهای پیش سیناپسی نشان دادند. اگر آن‌ها بیشتر به نوع تمرین ارایه شده وابسته بودند. به عنوان مثال، دیشنز و همکارانش (۲۱، ۲۳)

عصبی از جمله تشکیل سیناپس و انعطاف پذیری سیناپسی را تنظیم می‌کنند (۳۱). تحقیقات قبلی نشان داده که تمرینات ورزشی موجب افزایش بیان و تولید برخی فاکتورهای رشد از بافت عضله و همچنین سیستم عصبی می‌شود (۲۵، ۳۲، ۳۳). با توجه به اینکه بخشی از ساختار اتصال عصبی-عضلانی عصب می‌باشد فاکتورهای رشد عصبی می‌تواند نقش مفیدی در ثبات ساختاری و بقای این ساختار داشته باشد. سینترون-کولون و همکاران در تحقیقی گزارش کردند که تمرینات ورزشی موجب افزایش معنی‌داری در طول و سطح صفحات انتهایی رنگ آمیزی شده در عضلات موش‌های تمرین کرده در مقایسه با گروه کم‌تحرک مشاهده می‌شود. همچنین گرایشی به سمت افزایش محتوای پروتئین GDNF در عضلات موش‌های صحرایی تمرین کرده در مقایسه با موش‌های کنترل مشاهده شد، با این حال، اثر معنی‌دار نبود. همچنین، تمرکز مشترک بین GDNF و اسیتیل‌کولین ترانسفراز در بافت‌های موش صحرایی مشهودتر بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که افزایش فعالیت بدنی باعث تقویت نوروپلاستی ساختاری در عناصر اتصال عصبی-عضلانی می‌شود و احتمالاً منجر به افزایش عملکرد عصبی و عضلانی می‌شود (۳۰). تمرینات ورزشی می‌توانند به صورت مثبت در تنظیم افزایشی ژن‌ها و بیان پروتئین چندین مولکول و عوامل رشد دخیل باشد. فعالیت بدنی و تمرینات ورزشی به‌طور طبیعی بیان فاکتور نورون‌زایی مشتق شده از سلول‌های گلیال (GDNF) را به صورت متفاوت در تارهای عضلانی تند انقباض و کند انقباض تغییر می‌دهند و در نتیجه منجر به اثر نورون حرکتی محیطی می‌شوند (۳۴). ورواین و همکارانش (۳۵) به وضوح نشان دادند که چهار هفته انجام ورزش بر روی یک تردمیل موجب افزایش محتوای GDNF در عضله سولئوس، عضله سینه‌ای و همچنین عضلات اصلی گاسترو می‌شود، در حالیکه بی حرکتی اندام جنبشی عکس این اثر را ایجاد می‌کند. بعلاوه عوامل رشد دیگری وجود دارند که به‌طور طبیعی موجب سازگاری اتصال عصبی-عضلانی می‌شوند که این عوامل نیز توسط ورزش تحریک می‌شوند. همانطور که توسط فانکوشی (۳۶) مورد بررسی قرار گرفت، به نظر می‌رسد که افزایش بیان نوروتروفین ۴ یک فعالیت وابسته باشد.

(میکروتوبول‌ها و سلول‌های عصبی) مشاهده شد (۲۸). با توجه به اینکه یکی از مشکلات اساسی در سالمندان ضعف عضلانی و عملکردی می‌باشد؛ تمرینات ورزشی می‌تواند به عنوان یک راهکار غیردارویی مفید برای جلوگیری از زوال عصبی-عضلانی و بهبود عملکرد حرکتی در این افراد به کار گرفته شود.

برخی از استراتژی‌هایی که در مقالات علمی یافت شدند، از ورزش و فعالیت بدنی به عنوان فعالیت‌هایی که انجام آن‌ها آسان است و همچنین کم هزینه می‌باشند یاد شده است. چنگ و همکارانش (۲۶) نشان دادند که انجام تمرینات ورزشی به صورت اختیاری طول عمر را افزایش می‌دهند و همچنین ساختار اتصال عصبی-عضلانی متراکم‌تری را در سنین بالا ارایه می‌کنند. در تحقیق فهیم و همکاران نتایج حاکی از افزایش ۴۰ درصدی در سطح پایانه عصبی و کاهش ۵ درصدی وزیکول‌ها در موش‌های جوان شد ولی در موش‌های پیر نتایج متفاوت بود و موجب کاهش ۲۹ درصدی سطح پایانه عصبی به همراه افزایش تعداد وزیکول ۱۳۳ درصدی در موش‌های مسن شد (۲۸). به نظر می‌رسد علاوه بر تفاوت در ویژگی‌های مورفولوژیکی موش‌های پیر و جوان، سازگاری‌های ساختاری نسبت به ورزش نیز متفاوت باشد.

پیامدهای تمرینات ورزشی بر بیان نوروتروفین‌ها در اتصال عصبی-عضلانی

در جوامع مدرن، فواید انجام تمرینات ورزشی کاملاً شناخته شده‌اند. اگرچه تعداد کمی از مردم در مورد مکانیسم‌های مولکولی که رشد و توسعه عملکردهای سیستم را هماهنگ می‌کنند آگاهی دارند (۲۹). همانطور که در نتایج بررسی‌های انجام شده بر روی حیوانات جوان و پیر هنگام انجام تمرینات ورزشی نشان داده شد، سازگاری‌هایی که در ساختار اتصال عصبی-عضلانی رخ می‌دهند ممکن است با افزایش سن حیوان یا انسان متفاوت باشند.

از جمله عوامل مرتبط با سازگاری‌های ساختاری اتصال عصبی-عضلانی فاکتورهای رشد عصبی یا نوروتروفین‌ها می‌باشند (۳۰). نوروتروفین‌ها به عنوان فاکتورهای بقای عصبی شناخته می‌شوند، اما تحقیقات نشان داده آن‌ها جنبه‌های بسیاری از رشد و عملکرد

عضلات فعال و تحویل اکسیژن مورد نیاز برای تولید انرژی بسیار کارآمد هستند. هنگام انجام ورزش‌ها، انقباضات ریتمیک عضلانی به‌طور طبیعی خون را در سرتاسر سیستم عضلانی پمپاژ می‌کند و بدین طریق اکسیژن را به میتوکندری برای تولید آدنوزین تری فسفات تحویل می‌دهد. این موضوع با بهسازی میزان سیگنال‌دهی عصبی-عضلانی، و بهبود کارایی عضله که یک فاکتور شناخته شده دیگر برای کمک به رشد است، به بهبود عملکرد کلی اتصال عصبی-عضلانی ختم می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اتصال عصبی-عضلانی مانند سایر سیناپس‌ها، نسبت به تغییرات در الگوی استفاده خود حساس است و با توجه به استرس‌های ناشی از تغییرات سازگار می‌شود. تمرینات ورزشی موجب تحریک اتصال عصبی-عضلانی می‌شود و باعث بازسازی عملکردی و مورفولوژیکی در این سیناپس می‌شود که نتیجه آن سازگاری برای بهبود عملکرد می‌باشد. از نظر فیزیولوژیکی، تمرینات ورزشی باعث افزایش مقدار کمی، حاشیه ایمنی، تغییر در میزان و ترشح انتقال دهنده عصبی می‌شود و تحمل خستگی را در مقابل محرک‌های مداوم مانند تمرینات استقامتی بهبود می‌بخشد. از نظر ساختاری، تمرین ورزشی منجر به تقویت شاخه ترمینال عصب پیش-سیناپسی، تعداد وزیکول‌ها به همراه تعداد بیشتری گیرنده پس سیناپسی می‌شود. هر دو نوع تمرین استقامتی و مقاومتی موجب سازگاری در اتصال عصبی-عضلانی می‌شود، اما به نظر می‌رسد که تمرینات استقامتی به علت تحریک طولانی مدت و مداوم محرک قوی‌تری برای اتصال عصبی-عضلانی باشد و در نتیجه سازگاری‌های آن مشهودتر است. از طرفی تمرینات ورزشی برای موش‌های جوان و پیر مفید می‌باشد و موجب استحکام بیشتر اتصال عصبی-عضلانی در هر دو موش پیر و جوان می‌شود هر چند در سازگاری‌های کسب شده از تمرینات بر اتصال عصبی-عضلانی موش‌های پیر و جوان تفاوت‌های وجود دارد.

اگرچه تمرینات ورزشی می‌تواند موجب سازگاری‌های مفید در در سنین مختلف از کودکی تا سالمندی شود

اگرچه، چندین عامل مرتبط با ورزش وجود دارند که بیان نشده‌اند. علاوه بر این گفته می‌شود که فاکتور نورون‌زایی مشتق شده از مغز (BDNF) با انجام ورزش افزایش می‌یابد؛ و در آخر، فاکتور رشد شبه انسولین نیز ممکن است به عنوان یک فاکتور اصلی تنظیم کننده رشد که توسط ورزش کنترل می‌شود دخیل باشد. این موضوع نشان می‌دهد که به احتمال زیاد فاکتورهای رشد بر روی سازگاری اتصال عصبی-عضلانی و قطع عصب و عصب‌گذاری نورون‌های حرکتی اثر می‌گذارد (۳۷، ۳۸). با توجه به نقش نروتروفین‌ها در حفظ و بهبود ساختاری اتصال عصبی-عضلانی می‌توان گفت که یکی از سازگاری‌های مؤثر تغییرات مورفولوژیکی اتصال عصبی-عضلانی نسبت به تمرینات ورزشی افزایش نروتروفین‌ها می‌باشد.

هدف این مقاله بررسی اثرات ورزش بر اتصال عصبی-عضلانی و بیماری‌های مرتبط آن در تمامی سنین بود. انجام تمرینات استقامتی در حیوانات جوان موجب افزایش مساحت کلی پایانه‌های عصبی، طول پایانه و پیچیدگی شاخه‌های بخش‌های سیناپسی شد. در حیوانات پیر در محیط لکه دار صفحه انتهایی کاهش را نشان می‌دهد؛ بنابراین، تمرینات ورزشی موجب افزایش هیپرتروفی اتصال عصبی-عضلانی در هر دو سن جوان و پیر می‌شود. نوع تمرینات بر پاسخ‌های سازگار اتصال عصبی-عضلانی اثر می‌گذارند، از آنجا که به نظر می‌رسد که اثرات در ورزش‌های استقامتی نسبت به ورزش‌های قدرتی چشمگیرتر بودند؛ مشاهده شد که تفاوت روش‌ها و مسیرها در پروتکل تمرینات به صورت مستقیم بر پاسخ‌های بدست آمده اثر می‌گذارند؛ بنابراین این مطالعه نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی می‌توانند به صورت متفاوت اتصال عصبی-عضلانی را در تمامی سنین را تغییر دهند.

انجام تمرینات ورزشی تقاضا برای اکسیژن و همچنین عملکرد کلی تئوری فیلامان لغزشی را افزایش می‌دهد. طی انجام تمرینات ورزشی یکنواخت، عضلات به‌طور طبیعی توسط گذرگاه‌های سوخت و سازی، سوخت رسانی می‌شوند که در نهایت نیازمند وجود اکسیژن خواهند بود. این ورزش‌ها همچنین ورزش‌های هوازی نامیده می‌شوند. ورزش‌های هوازی به‌طور طبیعی در دستیابی به یک توازن بین انرژی مورد نیاز برای

11. Yoo S-Z, No M-H, Heo J-W, Park D-H, Kang J-H, Kim SH, et al. Role of exercise in age-related sarcopenia. *J Exerc Rehabil*. 2018;14(4):551.
12. Nishimune H, Stanford JA, Mori Y. Role of exercise in maintaining the integrity of the neuromuscular junction. *Muscle Nerve*. 2014;49(3):315-24.
13. Deschenes MR. Adaptations of the neuromuscular junction to exercise training. *Curr Opin Physiol*. 2019;10:10-6.
14. Wen G, Hui W, Dan C, Xiao-Qiong W, Jian-Bin T, Chang-Qi L, et al. The effects of exercise-induced fatigue on acetylcholinesterase expression and activity at rat neuromuscular junctions. *Acta Histochem Cytochem*. 2009;42(5):137-42.
15. Radak Z, Torma F, Berkes I, Goto S, Mimura T, Posa A, et al. Exercise effects on physiological function during aging. *Free Rad Biol Med*. 2019;132:33-41.
16. Ojagbemi A, Akin-Ojagbemi N. Exercise and quality of life in dementia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Appl Gerontol*. 2019;38(1):27-48.
17. Davies C, White M. Contractile properties of elderly human triceps surae. *Gerontology*. 1983;29(1):19-25.
18. Vikberg S, Sörlén N, Brandén L, Johansson J, Nordström A, Hult A, et al. Effects of resistance training on functional strength and muscle mass in 70-year-old individuals with pre-sarcopenia: a randomized controlled trial. *J Am Med Direct Assoc*. 2019;20(1):28-34.
19. Beckwée D, Delaere A, Aelbrecht S, Baert V, Beaudart C, Bruyère O, et al. Exercise interventions for the prevention and treatment of sarcopenia. A systematic umbrella review. *J Nutr Health Aging*. 2019;23(6):494-502.
20. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JP, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol*. 2009;62(10):E1-E34.
21. Deschenes M, Maresh C, Crivello J, Armstrong L, Kraemer W, Covault J. The effects of exercise training of different intensities on neuromuscular junction morphology. *J Neurocytol*. 1993;22(8):603-15.
22. Delp MD, Duan C. Composition and size of type I, IIA, IID/X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. *J Appl Physiol*. 1996;80(1):261-70.
23. 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.
24. Hirsch N. Neuromuscular junction in health and

ولی به دلیل تفاوت‌های مرتبط با سن سازگاری‌های کسب شده از نظر کمی و کیفی متفاوت می‌باشد. با توجه به اینکه در تحقیقات بررسی شده اکثر تحقیقات روی جنسیت نر انجام شده بود پیشنهاد می‌شود که در تحقیقات آینده علاوه بر اثر تمرینات ورزشی جنسیت و تفاوت‌های جنسیتی در سازگاری به تمرین نیز در نظر گرفته شود. از طرفی با توجه به اینکه سازگاری‌های کسب شده در حیوانات پیر نسبت به حیوانات جوان متفاوت می‌باشد نیاز به تحقیقات دقیقتری برای یافتن دلایل اختلاف در سازگاری‌ها می‌باشد.

References

1. Lepore E, Casola I, Dobrowolny G, Musarò A. Neuromuscular junction as an entity of nerve-muscle communication. *Cells*. 2019;8(8):906.
2. Tomàs J, Garcia N, Lanuza MA, Santafé MM, Tomàs M, Nadal L, et al. Presynaptic membrane receptors modulate ACh release, axonal competition and synapse elimination during neuromuscular junction development. *Front Mol Neurosci*. 2017;10:132.
3. Hughes BW, Kusner LL, Kaminski HJ. Molecular architecture of the neuromuscular junction. *Muscle Nerve*. 2006;33(4):445-61.
4. Ma J, Smith BP, Smith TL, Walker FO, Rosencrance EV, Koman LA. Juvenile and adult rat neuromuscular junctions: density, distribution, and morphology. *Muscle Nerve*. 2002;26(6):804-9.
5. Gault ML, Willems ME. Aging, functional capacity and eccentric exercise training. *Aging Dis*. 2013;4(6):351.
6. Kang H, Lichtman JW. Motor axon regeneration and muscle reinnervation in young adult and aged animals. *J Neurosci*. 2013;33(50):19480-91.
7. Shi Y, Ivannikov MV, Walsh ME, Liu Y, Zhang Y, Jaramillo CA, et al. The lack of CuZnSOD leads to impaired neurotransmitter release, neuromuscular junction destabilization and reduced muscle strength in mice. *PLoS One*. 2014;9(6):e100834.
8. Stangl MK, Böcker W, Chubanov V, Ferrari U, Fischereder M, Gudermann T, et al. Sarcopenia—endocrinological and neurological aspects. *Experim Clin Endocrinol Diabetes*. 2019;6(01):8-22.
9. Sanchis-Gomar F, Pareja-Galeano H, Mayero S, Perez-Quilis C, Lucia A. New molecular targets and lifestyle interventions to delay aging sarcopenia. *Front Aging Neurosci*. 2014;6:156.
10. Montero-Fernandez N, Serra-Rexach J. Role of exercise on sarcopenia in the elderly. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2013;49(1):131-43.

disease. *Br J Anaesthes*. 2007;99(1):132-8.

25. Dana A, Fallah Z, Moradi J, Ghalavand A. The Effect of Cognitive and Aerobic Training on Cognitive and Motor Function, and Brain-Derived Neurotrophic Factors in Elderly Men. *J Develop Motor Learn*. 2019;10(4):537-52.

26. Cheng A, Morsch M, Murata Y, Ghazanfari N, Reddel SW, Phillips WD. Sequence of age-associated changes to the mouse neuromuscular junction and the protective effects of voluntary exercise. *PLoS One*. 2013;8(7):e67970.

27. Gillon A, Nielsen K, Steel C, Cornwall J, Sheard P. Exercise attenuates age-associated changes in motoneuron number, nucleocytoplasmic transport proteins and neuromuscular health. *GeroScience*. 2018;40(2):177-92.

28. Fahim MA, Habak C, Seghier M, Hasan M. Exercise Modulates Remodeling of the Diaphragm of the Neuromuscular Junction with Aging in Mice. *FASEB J*. 2020;34(S1):1-.

29. Dumitru D, Amato AA, Zwarts MJ. *Electrodiagnostic medicine: Hanley & Belfus Philadelphia*; 2002.

30. Cintrón-Colón AF, Spitsbergen JM. Effect of long-term exercise on GDNF expression and innervation in rat skeletal muscle. *FASEB J*. 2019;33(S1):700.25-.25.

31. Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philosoph Transact Royal Soc B: Biol Sci*. 2006;361(1473):1545-64.

32. Jiménez-Maldonado A, Rentería I, García-Suárez PC, Moncada-Jiménez J, Freire-Royes LF. The impact of high-intensity interval training on brain derived neurotrophic factor in brain: a mini-review. *Front Neurosci*. 2018;12:839.

33. Hall JM, Gomez-Pinilla F, Savage LM. Nerve growth factor is responsible for exercise-induced recovery of septohippocampal cholinergic structure and function. *Front Neurosci*. 2018;12:773.

34. Gyorkos AM, Spitsbergen JM. GDNF content and NMJ morphology are altered in recruited muscles following high-speed and resistance wheel training. *Physiol Rep*. 2014;2(2):e00235.

35. Wehrwein EA, Roskelley EM, Spitsbergen JM. GDNF is regulated in an activity-dependent manner in rat skeletal muscle. *Muscle Nerve*. 2002;26(2):206-11.

36. Funakoshi H, Belluardo N, Arenas E, Yamamoto Y, Casabona A, Persson H, et al. Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons. *Science*. 1995;268(5216):1495-9.

37. Neto WK, Ciena AP, Anaruma CA, de Souza RR, Gama EF. Effects of exercise on neuromuscular junction components across age: systematic review of animal experimental studies. *BMC Res Notes*. 2015;8(1):713.

38. Cobianchi S, Arbat-Plana A, M Lopez-Alvarez

V, Navarro X. Neuroprotective effects of exercise treatments after injury: the dual role of neurotrophic factors. *Curr Neuropharmacol*. 2017;15(4):495-518.