

**Thesis Title** Effect of Passive Stretching Combined with Vitamin C Administration on Immobilization-Induced Muscle Atrophy in Rat

**Author** Miss Chutchadaporn Jaiyen

**Degree** Master of Science (Physiology)

**Thesis Advisory Committee**

Asst. Prof. Dr. Chucheepp Praputpittaya

Advisor

Asst. Prof. Dr. Alfredo Villarroel

Co-advisor

**ABSTRACT**

Muscle immobilization is accepted to cause alterations in skeletal muscle leading to muscle atrophy. The alterations have been shown to involve changes of oxidative stress of the muscle. While passive stretching is widely used to prevent muscle injuries and vitamin C is accepted to have high antioxidant properties in many studies, the aims of this study was to determine the combined effect of passive stretching and vitamin C administration on immobilization-induced muscle atrophy in rat.

The male Wistar rats were divided into a control group (C group) and immobilization groups. In immobilization groups, immobilization was performed with bilateral full plantar flexion using a plaster cast for 3 weeks and the animals then underwent different remobilization programs for 1 week except one group of animals that was subject to no further treatment but subject to measurements and then

sacrificed hence recognized as the I group. Other animals underwent different remobilization programs: for additional 1 week (IU group), immobilization with passive stretching in bilateral full dorsiflexion position under anesthesia for 40 min/day (IP group), immobilization and vitamin C administered intraperitoneally at a dose of 50, 100, or 200 mg/kg BW/day (IVC50, IVC100, IVC200 groups), immobilization and passive stretching combined with vitamin C administered intraperitoneally at a dose of 50, 100, or 200 mg/kg BW/day (IPVC50, IPVC100, IPVC200 groups). The locomotor activity of all animals was tested during 3 periods which were before, during and after the 3-weeks immobilization period. At the end of experiment, the animals were anesthetized for muscle function measurement and then sacrificed and muscle tissues collected for determination of malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities.

The immobilized muscles had decreased muscle mass and muscle contractile activity indicated by reduced peak isometric twitch when compared with control group. The decrease of muscle mass in this study was related to the locomotor activity that was noted with a tendency to decrease during the immobilization period in all immobilization groups of animals. There was a high level of oxidative stress as indicated by increased MDA level and decreased GSH level and a corresponding decreased antioxidative enzyme activity of SOD and CAT enzymes.

The present study shows that passive stretching can minimize muscle mass loss by decreasing oxidative stress which was confirmed by decreased MDA level and increased GSH level in IP when compared with IU group. However, this did not affect the increases of SOD and CAT activities thus suggesting that the protective

effect of passive stretching is not related to an antioxidative enzyme. In contrast, animals in IVC200 group showed with decreased oxidative stress and this antioxidative effect was mediated by both antioxidative enzymes and non-antioxidative enzymes. However, these protective effects were not enough to resume both muscle mass and muscle contractile activity. Interestingly, IPVC200 treatment was shown to be effective in decreasing oxidative stress and this antioxidative effect was mediated via both antioxidative enzymes and non-antioxidative enzymes indicated by decreased MDA but increased GSH levels, and increased SOD and CAT enzyme activities. Moreover, this treatment can minimize the reduction in both mass and contractility in immobilized muscle.

The results of the present study suggest that immobilized muscle may develop oxidative stress with decreased antioxidative enzyme activity leading to loss of muscle mass and muscle force production and passive stretching in combination with vitamin C administration may minimize those effects by decreasing the oxidative stress occurred in immobilized muscle fiber.

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์**

ผลของการยืดกล้ามเนื้อโดยอาศัยแรงผู้อื่นช่วยร่วมกับการให้  
วิตามินซีต่อการฝ่อลีบของกล้ามเนื้อจากภาวะจำกัดการเคลื่อนไหว  
ในหนูทดลอง

**ผู้เขียน**

นางสาวชัชฎาภรณ์ ใจเย็น

**ปริญญา**

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สรีรวิทยา)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

ผศ.ดร. ชูชีพ ประพุทธพิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ผศ.ดร. อัลเฟรโด วิลยาโรเอล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

**บทคัดย่อ**

กล้ามเนื้อที่ถูกจำกัดการเคลื่อนไหวจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านต่างๆ จนทำให้เกิดการ  
ฝ่อลีบของกล้ามเนื้อ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นเกี่ยวข้องกับ การเพิ่มขึ้นของภาวะเครียดออกซิ  
เดชันภายในกล้ามเนื้อ ในขณะที่นิยมใช้การยืดกล้ามเนื้อโดยอาศัยแรงผู้อื่นช่วยเพื่อป้องกันการ  
บาดเจ็บของกล้ามเนื้อ และเป็นที่ยอมรับกันว่าวิตามินซี มีคุณสมบัติในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระ  
อย่างดี งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลรวมของการยืดกล้ามเนื้อโดยอาศัยแรงผู้อื่นช่วย  
ร่วมกับการให้วิตามินซีในกล้ามเนื้อของหนูที่ฝ่อลีบจากการถูกจำกัดการเคลื่อนไหว

หนูขาวเพศผู้พันธุ์ Wistar แบ่งเป็นกลุ่มควบคุม (C group) และกลุ่มที่ถูกจำกัดการเคลื่อนไหว  
ซึ่งในกลุ่มนี้จะถูกจำกัดการเคลื่อนไหวโดยการใส่ฝือกให้อยู่ในท่ากระดูกปลายเท้าลงให้สุดทั้งสอง  
ข้างเป็นเวลาติดต่อกันนาน 3 สัปดาห์ ภายหลังจากถอดฝือกแล้วหนูจะได้รับโปรแกรมการฟื้นฟูที่  
ต่างกันอีก 1 สัปดาห์ ยกเว้นหนึ่งกลุ่มที่ไม่ได้เลี้ยงดูต่อไปแต่นำมาตรวจวัดค่าต่างๆแล้วเก็บ  
กล้ามเนื้อไว้ศึกษาต่อไป (I group), ส่วนกลุ่มที่ได้รับโปรแกรมการฟื้นฟูที่ต่างกันอีก 1 สัปดาห์ จะ  
ประกอบไปด้วยกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาใดๆเลย (IU group) กับกลุ่มที่ได้รับการยืดกล้ามเนื้อโดย  
อาศัยแรงผู้อื่นช่วย (IP group) ซึ่งหนูกลุ่มนี้จะถูกทำให้สลบและจะถูกจัดให้อยู่ในท่ากระดูกปลาย  
เท้าทั้งสองข้างขึ้นให้สุด ทำค้างไว้นาน 40 นาทีต่อวัน, กลุ่มที่ให้วิตามินซีในปริมาณ วิตามินซี  
ขนาด 50 หรือ 100 หรือ 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (IVC50, IVC100, IVC200

groups) โดยการฉีดเข้าทางช่องท้อง, กลุ่มที่ได้ฉีดกล้ามเนื้อพร้อมกับทำให้วิตามินซี ในขนาด 50 หรือ 100 หรือ 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (IPVC50, IPVC100, IPVC200 groups) หนูทุกกลุ่มการทดลองจะถูกตรวจวัดความสามารถในการเคลื่อนที่ใน 3 ช่วง คือ ก่อน, ระหว่าง และภายหลังจากการถูกจำกัดการเคลื่อนไหวนาน 3 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองหนูจะถูกทำให้สลบเพื่อตรวจวัดการทำงานของกล้ามเนื้อ จากนั้นจะเก็บกล้ามเนื้อเพื่อตรวจวัดหาปริมาณของ MDA และ GSH และการทำงานของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) และ catalase (CAT)

พบว่ากล้ามเนื้อที่ถูกจำกัดการเคลื่อนไหวจะมีมวลกล้ามเนื้อและการหดตัวของกล้ามเนื้อลดลง ซึ่งยืนยันได้จากการลดลงของค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม การลดลงของมวลกล้ามเนื้อในการศึกษานี้สอดคล้องกับการลดลงของกิจกรรมการเคลื่อนที่ของร่างกาย ซึ่งมีแนวโน้มลดลงในช่วงที่ถูกจำกัดการเคลื่อนไหวในหนูทุกกลุ่ม พบมีการเพิ่มขึ้นของภาวะเครียดออกซิเดชันซึ่งจะบ่งชี้โดยปริมาณ MDA ที่เพิ่มขึ้นและการลดลงของ GSH ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ SOD และ CAT

การศึกษานี้ แสดงว่าการฉีดกล้ามเนื้อโดยอาศัยแรงผู้อื่นช่วยสามารถช่วยลดการสูญเสียมวลกล้ามเนื้อ โดยการลดระดับการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งยืนยันได้จากระดับปริมาณ MDA ที่ลดลงและการเพิ่มขึ้นของระดับ GSH ในกลุ่ม IP เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา แต่อย่างไรก็ตามการฉีดกล้ามเนื้อโดยอาศัยแรงผู้อื่นช่วยนี้ ไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ SOD และ CAT ซึ่งแสดงว่า ผลของการฉีดกล้ามเนื้อโดยอาศัยแรงผู้อื่นช่วยที่ช่วยป้องกันกล้ามเนื้อไม่ได้เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระแต่อย่างใด ในทางตรงข้ามสัตว์ทดลองที่ให้วิตามินซี 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีการลดลงของภาวะเครียดออกซิเดชันโดยอาศัยการทำงานของระบบป้องกันต้านอนุมูลอิสระทั้งที่เป็นแบบเอนไซม์และแบบที่ไม่ใช่เอนไซม์ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าผลดังกล่าวไม่สามารถช่วยให้การสูญเสียทั้งมวลและการทำงานของกล้ามเนื้อลดลงได้และที่น่าสนใจในการศึกษานี้คือ พบว่าการฉีดกล้ามเนื้อโดยอาศัยแรงผู้อื่นช่วยร่วมกับให้วิตามินซี 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมมีประสิทธิภาพในการลดภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อ และผลนี้อาศัยการทำงานของระบบป้องกันต้านอนุมูลอิสระทั้งที่เป็นแบบเอนไซม์และแบบไม่ใช่เอนไซม์ ซึ่งบ่งชี้ได้จากปริมาณ

MDA ที่ลดลง ปริมาณ GSH และ เอนไซม์ SOD และ CAT ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ การกระทำดังกล่าวสามารถช่วยลดการลดลงของมวลและการทำงานของกล้ามเนื้อที่ถูกจำกัดการเคลื่อนไหวได้

ผลของการศึกษานี้บ่งชี้ว่า กล้ามเนื้อที่ถูกจำกัดการเคลื่อนไหว จะเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันเพิ่มมากขึ้น และเอนไซม์ต้านสารอนุมูลอิสระทำงานลดลง ส่งผลให้สูญเสียมวลและแรงหดตัวของกล้ามเนื้อ และการยืดกล้ามเนื้อโดยอาศัยแรงผู้อื่นช่วยร่วมกับให้วิตามินซีอาจช่วยลดผลดังกล่าวได้ โดยช่วยลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน