

تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر بیان ژن NT4/5 در عضلات تند و کند انقباض موش‌های صحرائی نر ویستار

نیکو خسروی^{۱*} - محمدرضا کردی^۲ - فهیمه اسدی^۳

۱. دانشیار دانشگاه الزهرا (س)، ۲. دانشیار دانشگاه تهران، ۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی،
دانشگاه الزهرا (س)

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۰۵، تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۰۲/۲۷)

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، مطالعه تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی (پنج روز در هفته) بر بیان ژن پروتئین NT4/5 در عضلات کند انقباض (نعلی) و تند انقباض (EDL) موش‌های صحرائی بود. بدن منظور تعداد ۱۴ سر موش نر ویستار با دامنه سنی ۵۰ تا ۶۰ روز و میانگین وزنی 160 ± 10 گرم به طور تصادفی به دو گروه تجربی ($n=7$) و گروه کنترل ($n=7$) تقسیم شدند. دوییدن با سرعت ۲۵ متر در دقیقه به مدت ۵۰ دقیقه بر روی تردمیل به عنوان تمرین استقامتی در نظر گرفته شد. برنامه تمرین به مدت هشت هفته و در هر هفته پنج روز اجرا شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه برنامه تمرین استقامتی و ۸ ساعت ناشتایی، آزمودنی‌ها بیهوش شدند و عضله نعلی و بازکننده دراز انگشت شست پای آنها تحت شرایط استریل جدا شد. بافت‌های مورد نظر پس از وزن شدن، دردمای ۷۰- نگهداری شدند. به منظور اندازه‌گیری میزان بیان ژن NT4/5 از روش RT-PCR استفاده گردید. همچنین برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش‌های آمار توصیفی و آزمون تحلیل واریانس ANOVA دوطرفه (در سطح معناداری ۰/۰۵) استفاده شد. یافته‌های حاصل از پژوهش نشان داد که هشت هفته فعالیت استقامتی باعث افزایش در بیان ژن NT4/5 در دو عضله کند انقباض نعلی و تند انقباض EDL شد که این افزایش در عضله تند انقباض EDL بیشتر از عضله کند انقباض نعلی بود. از نظر آماری اختلاف معناداری بدست نیامد. لذا به نظر می‌رسد بررسی تأثیر تمرینات استقامتی با شدت و مدت بیشتر تمرین می‌تواند به عنوان محورهای پژوهشی آتی در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی

بیان ژن پروتئین NT4/5، عضله تند انقباض، عضله کند انقباض، تمرین استقامتی، موش‌های صحرائی.

مقدمه

سیناپسی را تعدیل کند (۱۹). با بررسی مطالعات پیشین، مشخص شده است که اثر فعالیت بدنی روی بیان نوروتروفین‌ها بویژه در عضلات اسکلتی، کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات نشان می‌دهد، سلول‌های عصبی و غیرعصبی می‌توانند سیگنال‌های نوروتروفین‌ها را فعال کنند (۱۹)، هم‌چنین فعالیت بدنی باعث تنظیم مثبت این فرایند می‌شود. شماری از نوروتروفین‌های بالقوه وجود دارند که ممکن است برهم‌کنش عصب و عضله را تحت تأثیر قرار دهند، بویژه BDNF و NT-4/5 که بر انتقال عصبی-عضلانی موثر هستند (۵، ۱۲، ۱۵). در سال‌های اخیر محققان، تأثیر دوره‌های تمرینی کوتاه مدت را بر بیان NT-4/5 و TrkB در عضلات اسکلتی بررسی کرده و یافته‌های ابهام‌آمیزی را در بیان NT-4/5 و TrkB در رابطه با نوع تارها گزارش کرده‌اند. با توجه به اینکه تولید NT4/5 در عضله با فعالیت عضلانی و رشد عصبی - عضلانی همبستگی دارد، فرض شده است که NT4/5 مشتق از عضله، برعکس نوروتروفین‌های دیگر که تولید آنها در عضله اسکلتی به آسیب عصبی وابسته است، ممکن است تأثیراتی بر نرون‌های حرکتی بالغ سالم داشته باشد (۷). فاناکوشی و همکارانش (۱۹۹۵) به منظور بررسی عملکردهای احتمالی NT4/5 مشتق از عضله، نشان داده‌اند که این پروتئین، افزایش درجوانه‌زنی نرون حرکتی رامیانجی‌گری می‌کند. افزایش بیان NT4/5 mRNA تاکنون بعد از هم‌فشاردگی مکانیکی، کشش غیرفعال یا آسیب عضلانی دیده نشده است که به معنای افزایش NT4/5 mRNA در نتیجه مستقیم فعال‌سازی عضله و نه در نتیجه فشار مکانیکی عضلانی است. بنابراین الگوی بیان NT4/5 mRNA بعد از عصب‌زدایی، بلوک کردن انتقال عصبی-عضلانی، تحریک الکتریکی در طول رشد پس از جنینی بر این موضوع دلالت دارد که NT4/5 mRNA در عضله اسکلتی توسط فعالیت عضلانی کنترل

نوروتروفین‌ها گروه کوچکی از فاکتورهای رشد عصبی هستند که به لحاظ ساختاری و عملکردی به هم مرتبط هستند. مشخص شده است که این مولکول‌ها تولید، بقا، تمایز و احیای نرون‌ها در سیستم عصبی مرکزی و محیطی را کنترل می‌کنند.

خانواده نوروتروفین‌ها^۱ شامل پروتئین‌های فاکتور رشد عصبی^۲ (NGF)، فاکتور نوروتروفین مشتق شده از مغز^۳ (BDNF)، نوروتروفین-۳^۴ (NT3)، نوروتروفین-۴/۵^۵ (NT4/5)، نوروتروفین-۶^۶ (NT6) می‌باشد که تقریباً ۵۰ درصد از اسیدهای آمینه تشکیل دهنده آنها، یکسان هستند (۷، ۸، ۱۰). تأثیرات نوروتروفین‌ها از طریق دو دسته گیرنده نوروتروفین یعنی p75 و خانواده گیرنده تیروزین کیناز^۷ (TrK) اعمال می‌شود (۱، ۱۶، ۱۸).

وجود نوروتروفین‌ها در بسیاری از بافت‌های بدن به اثبات رسیده و ارتباط بین نوروتروفین‌ها و گیرنده‌های آنها در سیستم حرکتی قبلاً مورد آزمایش قرار گرفته است. تحقیقات نشان داده‌اند که سیستم عصبی-عضلانی از جایگاه‌های مهمی است که نوروتروفین‌ها تأثیرات ویژه‌ای را در آنجا اعمال می‌کنند. برای مثال، نوروتروفین‌ها دارای نقش حیاتی در تنظیم بقا و حفظ عملکردهای ویژه برای جمعیت گوناگون نرون‌ها هستند (۱، ۱۶، ۱۸). نوروتروفین‌ها از جمله BDNF برای تقویت عصب‌رسانی، عملکرد طبیعی عصب-عضله و عصب‌زایی ضروری هستند (۱۵). رهایش پیش و پس سیناپسی نوروتروفین‌ها ممکن است رهایش نوروترانسمیترها^۸ و بنابراین کارآمدی

- 1 . Neurotrophins Family
- 2 . Nerve Growth Factor (NGF)
- 3 . Brain-derived neurotrophin factor (BDNF)
- 4 . Neurotrophin-3
- 5 . Neurotrophin-4/5
- 6 . Neurotrophin-6
- 7 . Tyrosine Kinase (TrK) Receptors
- 8 . Neurotransmitter

تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت $65 \pm 5\%$ و درجه حرارت $25 \pm 2^\circ\text{C}$ قرار گرفتند. تمام حیوانات به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند.

پروتکل تمرین

قبل از شروع جلسه تمرین اصلی، موش‌ها توسط ترازوی آزمایشگاهی هر هفته و قبل از جلسات آشناسازی وزن شدند. موش‌ها پس از همسان‌سازی به دو گروه تمرین استقامتی ($n=7$) و گروه کنترل ($n=7$) تقسیم شدند. به موش‌ها ۵ روز در هفته به مدت هشت هفته (۴۰ جلسه) روی نوار گردان تمرین داده شد. برنامه فعالیت استقامتی شامل ۵ روز آشناسازی حیوان با محیط و دستگاه نوار گردان بود که به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه با سرعت ۵ متر در دقیقه و شیب صفر درصد انجام گرفت و به صورت هفتگی ۵ متر در دقیقه و ۱۰ دقیقه به ترتیب به شدت و مدت تمرین اضافه شد تا در هفته چهارم سرعت به ۲۵ متر در دقیقه و مدت تمرین به ۵۰ دقیقه رسید (معادل $55\% \text{VO}_2\text{max}$). آزمودنی‌ها به منظور حفظ و تثبیت بار با همین شدت و مدت تا هفته هشتم تمرین کردند (۱۶). در ابتدای هر جلسه، آزمودنی‌ها به منظور گرم کردن، دو دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه دویدند، سپس، هردو دقیقه به سرعت دستگاه سه متر در دقیقه افزوده شد تا به سرعت مورد نظر و پیش بینی شده در هر جلسه رسید. در انتها نیز برای سرد کردن، سرعت دستگاه به ۱۰ متر در دقیقه و به مدت ۳ دقیقه کاهش پیدا کرد تا کل زمان شامل تمرین، گرم و سرد کردن به ۵۰ دقیقه رسید (جدول ۱).

شده است (۸). تا به حال مطالعات کمی به طور ویژه به موضوع بیان ژن NT4/5 ناشی از فعالیت، پرداخته است که در این راستا واکرووشون (۱۹۹۸) هیچ گونه افزایش معناداری برای NT4/5 در عضله پهن جانبی بین مردان کم‌تحرک و دوچرخه سواران تمرین کرده هوازی مشاهده نکرده است (۲۰). آگ بورن نیز در (۲۰۱۰) نشان داد که تمرین روی تردمیل تأثیری بر بیان ژن NT4/5 عضلات نعلی و دوقلو ندارد (۱۶). بنا بر این، با توجه به عدم تغییر در بیان NT4/5 mRNA در هیچ یک از عضلات تند و کند در پژوهش اخیر آگ بورن و نیز عدم مشاهده تفاوت در بیان NT4/5 mRNA آزمودنی‌ها پس از ده روز تمرین روی تردمیل (۹) و پژوهش واکروهمکارانش (۲۰)، این سوال مطرح می‌شود که آیا استفاده از شیوه تمرینی دیگری می‌تواند به فهم بیان وابسته به فعالیت این پروتئین کمک کند یا خیر؟

روش‌شناسی تحقیق

نوع پژوهش حاضر بنیادی و روش آن تجربی می‌باشد که در آن تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر بیان ژن NT4/5 در عضله تند و کند انقباض موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بررسی شد. جامعه آماری این پژوهش را موش‌های نر صحرایی ویستار انیستیتو پاستور ایران تشکیل دادند که ۱۴ سر موش جوان با دامنه سنی ۵۰ تا ۶۰ روز و میانگین وزن 160 ± 10 گرم به عنوان نمونه انتخاب شدند. پس از انتقال موش‌ها به حیوان‌خانه دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران، موش‌ها در ۱۴ قفس، در هر قفس یک موش و تحت چرخه روشنایی

جدول ۱. برنامه تمرین استقامتی به مدت ۸ هفته (۴۰ جلسه)

هفته (۵ جلسه در هفته)	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
سرعت (متر بردقیقه)	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵
زمان (دقیقه)	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰

آماده سازی نمونه ها

آنالیز واریانس دو طرفه، می‌توان با اطمینان ۹۵ درصد گزارش کرد که نوع عضله و انجام تمرین در میزان بیان ژن NT-4/5 تاثیر معنادار نداشته است (جدول ۲).

پس از انجام برنامه تمرین استقامتی، موش‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و ۸ ساعت ناشتایی، بیهوش شدند و عضله نعلی^۱ و بازکننده دراز انگشتان پای^۲ پای^۳ آن‌ها تحت شرایط استریل جدا شد. بافت مورد نظر پس از وزن شدن، بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و ضمن انتقال به آزمایشگاه تا زمان اجرای اندازه‌گیری در دمای ۷۰- نگهداری شد. RNA نمونه‌های هموزنی به- وسیله کیت ترایزول^۳ استخراج شد و برای ساخت cDNA ژن‌ها، مورد استفاده قرار گرفت. برای اطمینان از غلظت cDNA های ساخته شده به وسیله دستگاه ترمال سایکل با پرایمرهای ژن β -actin و NT-4/5 در دستگاه RT-PCR قرار داده شدند. با این روش میزان بیان ژن NT-4/5 در گروه‌های کنترل و تمرین به دست آمد.

روش آماری

برای توصیف داده های جمع‌آوری شده از روش های آمار توصیفی استفاده شد. پس از اطمینان از طبیعی بودن داده ها که با آزمون کولموگروف اسمیرنف اصلاح شده (K-S) مشخص شد، از روش آماری ANOVA دوطرفه و با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۶ برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها استفاده گردید. همچنین سطح معناداری در این آزمون $P \leq 0/05$ بود.

نتایج

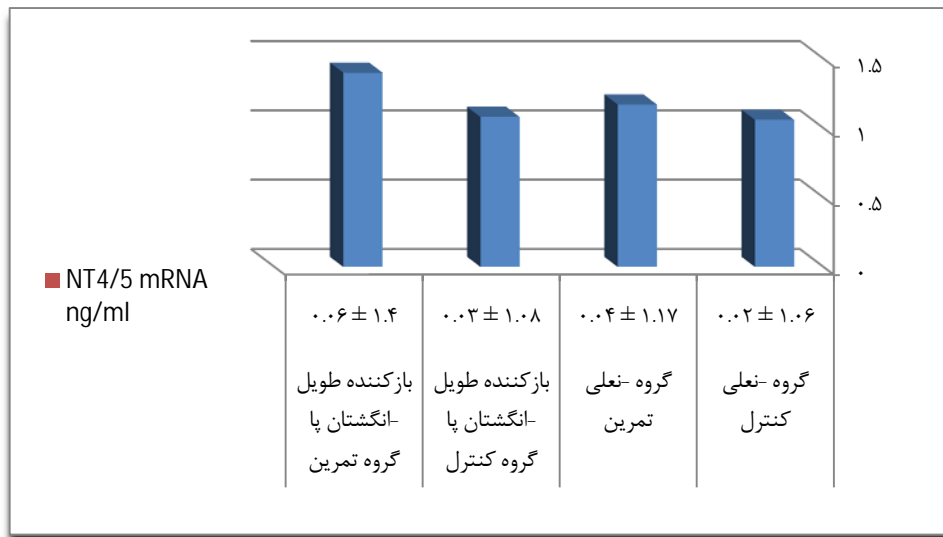
نتایج پژوهش نشان داد که بین بیان ژن NT-4/5 در دو عضله تند انقباض و کند انقباض موش‌های صحرایی نر ویستار به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی، اختلاف معنادار وجود ندارد. با توجه به غیر معنادار بودن آزمون

- 1 . Soleus
- 2 . Extensor Digitorum Longus(EDL)
- 3 . Trizol RNA kit

جدول ۲. تغییرات بیان ژن NT-4/5 بر اساس نوع عضله و وضعیت تمرین

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	نسبت F	سطح معناداری	وضعیت معناداری
نوع عضله	۰/۰۵۱	۱	۰/۰۵۱	۰/۱۳۰	۰/۷۲۷	غیر معنادار
انجام تمرین	۰/۰۳۳	۱	۰/۰۳۳	۰/۰۸۳	۰/۷۸۰	غیر معنادار
اثر متقابل نوع عضله و انجام تمرین	۰/۱۴۱	۱	۰/۱۴۱	۰/۳۶۱	۰/۵۶۴	غیر معنادار

به عبارت دیگر، پس از هشت هفته تمرین، بین بیان ژن NT4/5 در دو نوع عضله، تفاوت معناداری مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین بیان ژن NT4/5 بین عضلات تند و کند انقباض گروه تمرین و کنترل

شواهدی وجود دارد که از نقش بیان نوروتروفین‌های مشتق از عضله اسکلتی برای درگیری در چنین سازگاری-هایی حمایت می‌کند. هر چند مشخص شده‌است فعالیت عصبی-عضلانی (تمرین نوار گردان و دویدن اختیاری روی چرخ دوار) بیان نوروتروفین‌ها را در سرتاسر سیستم عصبی مرکزی افزایش می‌دهد (۱۳،۸) با این حال، نتایج پژوهش‌های محدودانجام گرفته، نشان می‌دهد که نوروتروفین‌های عضله اسکلتی نیز تحت تاثیر فعالیت قرار می‌گیرند.

در حالی که بعضی از پژوهشگران NT4/5 را به عنوان نوروتروفین اصلی در سیستم عصبی-عضلانی بالغ معرفی

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد هشت هفته تمرین استقامتی باعث افزایش در بیان NT4/5 mRNA عضله کند انقباض نعلی و عضله تند انقباض EDL شد ولی این افزایش از نظر آماری معنادار نبود. همچنین بین بیان ژن NT4/5 در دو نوع عضله تفاوت معناداری مشاهده نشد. فعالیت ورزشی تحریک بالقوه‌ای برای تعدیل ویژگی‌های آنزیمی، فنوتایپی و ساختاری عضله اسکلتی است و همچنین تغییرات چند گانه‌ای را در پارامترهای ساختاری و عملکردی عضله اسکلتی ایجاد می‌کند و

یافتند هیچ تفاوتی در بیان ژن NT4/5 عضله پهن جانبی بین مردان کم‌تحرك و دوچرخه سواران تمرین کرده هوازی وجود ندارد (۲۰). نتایج پژوهش آگ برن (۲۰۱۰) با این یافته هم راستاست و بیان می‌کند که تمرینی که از شدت کافی برای افزایش بیان BDNF در عضله نعلی برخوردار است، هیچ تاثیری بر بیان NT4/5mRNA در عضلات نعلی و دوقلو ندارد (۱۶). پژوهش حاضر با پژوهش دشن و همکاران (۲۰۰۳)، والکر و شون (۱۹۹۸) و آگ برن (۲۰۱۰) از لحاظ بررسی فعالیت عصبی-عضلانی همسو می‌باشد.

تنها پژوهشی که به بررسی تاثیر تمرین استقامتی روی نوارگردان بر بیان ژن NT4/5 در عضله کند و تند انقباض پرداخته است، پژوهش آگ برن (۲۰۱۰) است (۱۶). او بیان ژن‌های BDNF, NT4/5 و TrKB را در عضله نعلی و دوقلو میانی بعد از پنج یا ۱۰ روز تمرین روی تردمیل با سرعت ۲۰ متر در دقیقه با شیب پنج درصد به مدت ۳۰ دقیقه بررسی کرد. نتایج پژوهش وی نشان داد، بیان ژن BDNF بعد از پنج روز تمرین افزایش معناداری داشت در صورتی که بیان ژن NT4/5 و TrKB در هیچ یک از این دو دوره تحت تاثیر قرار نگرفتند. همچنین نوع عضله تاثیر معناداری بر روی بیان ژن NT4/5 و TrKB نداشت (۱۶). با توجه به این که مدت برنامه تمرینی وی کوتاه مدت بود در پژوهش حاضر تاثیر برنامه تمرینی با مدت طولانی‌تر (هشت هفته، پنج جلسه در هفته) بر بیان ژن NT4/5 بررسی شد که تفاوت معناداری در بیان ژن NT4/5 در گروه کنترل و تمرین به دست نیامد. بنابراین احتمالاً این مدت و شدت تمرین استقامتی برای تحریک بیان ژن NT4/5 در عضلات تند و کند انقباض کافی نبوده و بیان ژن NT4/5 احتمالاً تحت تأثیر شدت، مدت و نوع تمرین خواهد بود که باید پژوهش‌های بیشتری در این زمینه انجام شود.

کرده‌اند (۷)، پژوهش‌های اندکی در رابطه با بیان وابسته به فعالیت NT4/5 به دنبال فعالیت ورزشی انجام گرفته است. تنها فاناکوشی و همکاران (۱۹۹۵) نشان داده‌اند عضله اسکلتی، NT4/5 را در شیوه‌ای وابسته به فعالیت سنتز می‌کند (۸). در پژوهش آنها بیان NT4/5mRNA هم‌زمان با بلوغ عملکردی انتقال عصبی-عضلانی افزایش یافت. تحریک الکتریکی عصب سیاتیک موش برای یک ساعت میزان NT4/5mRNA را در هر دو عضله نعلی و دو قلو در مدت سه ساعت افزایش داد و در ۱۲ ساعت به بیشترین سطح رسید و تا ۲۴ ساعت بعد از تحریک بالا بود و برعکس، وقتی انتقال عصبی-عضلانی توسط آلفا-بونگاروتوکسین بلوک شد یا عصب سیاتیک قطع شد، NT4/5mRNA در عضله نعلی کاهش یافت. بنابراین، آنها نتیجه گرفتند که NT4/5 مشتق از عضله به عنوان یک سیگنال تروفیکی وابسته به فعالیت برای رشد و تغییر شکل عصب حرکتی بالغ، حرکت می‌کند. به علاوه NT4/5 ممکن است تا اندازه‌ای مسئول تاثیرات ورزش و تحریک الکتریکی بر اجزاء عصبی-عضلانی باشد (۸). از آنجایی که هشت هفته تمرین استقامتی باعث افزایش فعالیت عصبی-عضلانی می‌شود، انتظار می‌رفت این تمرین باعث افزایش بیان ژن NT4/5 در عضله تند-انقباض EDL و کند انقباض نعلی شود، ولی نتایج پژوهش حاضر نشان داد برنامه تمرین هشت هفته تمرین استقامتی باعث افزایش بیان ژن مورد نظر در این دو عضله شد، ولی این افزایش معنادار نبود.

با این حال، ارتباط وابسته به فعالیت بیان پروتئین توسط دشن و همکاران (۲۰۰۰) رد شده است. آنها هیچ تغییر معناداری را در NT4/5 به دنبال یک دوره بی‌باری اندام پشتی مشاهده نکرده‌اند، در حالی که کاهش در NT4/5 مورد انتظار بود. تاثیرات تمرین بر بیان ژن NT4/5 تا اندازه زیادی نامشخص است (۶). والکر و شون

داده‌های اخیر بیان می‌کنند، احتمالاً ارتباط قابل توجهی بین بیان نوروتروفین و بیان ایزوفرم‌های زنجیره سنگین میوزین^۱ عضله کند وجود دارد (۴). در طول رشد پس از جنینی، عضله نعلی متحمل تغییری در بیان MHC تند به سمت MHC کند می‌شود که این اتفاق در غیاب NT4/5 رخ نخواهد داد (۱۶). این تاثیر ویژه NT4/5 بوده و وابسته به فسفوریلاسیون TrKB است. همچنین، سیمون و همکاران (۲۰۰۳) توانایی نوروتروفین‌ها برای افزایش محافظت و ریکاوری، اندازه تار و فنوتایپ عضلانی را به دنبال قطع عصب سیاتیک مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، NT4/5 تاثیر قابل توجهی بر عضله کند انقباض نعلی داشت، اما تاثیر کمی بر اندازه تند انقباض EDL داشت. ۱۲۰ روز بعد از بی عصب کردن، تارهای نوع اول کاملاً از گروه عضلانی نعلی حذف شدند، با این حال، این کاهش به مقدار زیادی در حضور NT4/5 رخ داد. وقتی NT4/5 به عصب سیاتیک قطع شده تزریق شد، عضله تند انقباض EDL افزایشی را در تارهای نوع اول نشان داد (۱۸). کاراسکو و همکاران (۲۰۰۳) پیشنهاد کردند که NT4/5 قادر است همه نوروون‌های حرکتی را بدون توجه به نوع آنها متاثر کرده و بیان فنوتایپ‌های کند را بر آنها تحمیل کند (۴).

بنابراین از آنجایی که تمرین استقامتی بیان MHC کند را بالا می‌برد، انتظار می‌رفت که افزایش بیان ژن NT4/5 در عضله کند انقباض نعلی بیشتر از افزایش بیان ژن NT4/5 در عضله تند انقباض EDL باشد، در صورتی که نتایج پژوهش حاضر بر عکس این موضوع است. بنابراین افزایش بیشتر بیان ژن NT4/5 در عضله

EDL نسبت به عضله نعلی را می‌توان به تفاوت در تنظیم بیان NT4/5 mRNA در عضلات مختلف نسبت داد و به نظر می‌رسد این حجم از تمرینات یعنی هشت هفته به ویژه چهار هفته آخر با شدت ۲۵ متر در دقیقه و به مدت ۵۰ دقیقه EDL را بیشتر تحت تأثیر قرار داده است و برای تحریک عضله نعلی شدت و مدت بیشتر از این لازم است.

در مجموع، از نتایج پژوهش حاضر چنین می‌توان نتیجه گرفت که هشت هفته فعالیت استقامتی بیان NT4/5 مشتق از عضله را در عضله اسکلتی بالغ به صورت معناداری تحت تاثیر قرار نداد، اما باعث افزایش بیان ژن در هر دو عضله تند و کند شد که به طور ویژه در عضله تند انقباض EDL برجسته‌تر از عضله کند انقباض نعلی بود. با این حال، هنوز به طور قطع مشخص نیست نوروتروفین مورد مطالعه در این پژوهش از چه نقشی در هماهنگی پاسخ سیستم عصبی-عضلانی به افزایش فعالیت برخوردار هستند. پاسخ قطعی به این سوال، نیازمند پژوهش‌های جامع و گسترده‌تری در این زمینه است. پیشنهاد می‌شود با توجه به این که در پژوهش حاضر NT4/5 در دو عضله به ویژه عضله تند انقباض افزایش یافت اما این افزایش معنادار نبود، تأثیر تمرینات استقامتی در شدت‌های بالاتر مورد مطالعه پژوهش‌های آتی قرار گیرد. پژوهشگران می‌توانند تغییرات سطوح NT4/5 را پس از تمرینات استقامتی با شدت‌های متفاوت بررسی نمایند. هم‌چنین مدت بیشتر تمرینات استقامتی نیز می‌تواند به عنوان محورهای پژوهشی در زمینه بیان ژن NT4/5 مورد توجه قرار گیرد.

منابع و مآخذ

1. Barde Y A (1989). **Trophic factors and neural survival** .Neuron; 2:1525-1534.
2. Barker P A, Shooter E M(1994). **Disruption of NGF binding to the low-affinity neurotrophin receptor p75 reduces NGF binding to TrKA on PC12 cells**. Neuron; 13:203-215.
3. Bradely c. Gill, Brain M. Balog(2013). **Neurotrophin therapy improves recovery of the neuromuscular continence mechanism following simulated birth injury in rats**. Neurourology and Urodynamics , 32, pp. 82–87.
4. Carrasco DI, and English A W(2003). **Neurotrophin-4/5 is required for the normal development of the slow muscle fiber phenotype in the rat soleus**. J Exp Biol 206, 2191-2200.
5. Carter B, Chittka A, Kong H, Ok Y S, Chao M(1998). **Neurotrophin receptors: mediators of life and death** .Brain Research Reliews;295-301
6. Deschenes, M. R. (2000). **Effects of resistance training on neuromuscular junction morphology**. Muscle Nerve 23 , 1576-1581.
7. Friedman B, Kleinfeld D, Ip N.Y, Verge V.M.K, Moulton R, Boland P, Zlotchenko E, Lindsay R.M, Liu L(1995). **BDNF and NT4/5 exert neurotrophic influences on injured adult spinal motor neurons** .J. Neurosci. 15:1044-1056.
8. Funakoshi H, Belluardo N, Arennas E, Yamamoto Y, Casabona A, Persson H, et al(1995). **Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons**. Science;268:1495-1499
9. Gonrez-Pinilla, F., Ying, 2., Opazo, P., Roy, R. R., and Edgerton, V. R. (2001). **Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle**. Eur J Neurosci 1-3, 1078-1084
10. Hempstead BL, et al(2006). **Dissecting the diverse action of pro- and mature neurotrophins**. Curr Alzheimer Res; 3 (1):19-24.
11. Huggett, J., Dheda, I., Bustin, S., and Zutn Ia, A. (2005). **Real-time RT-PCR normalisation; strategies and considerations**. Genes Immun 6, 279-284
12. Ibanez C F, Ebental T, Persson H(1991). **Chimeric molecules with multiple neurotrophic activities reveal structural elements determining the specificities of NGF and BDNF** . EMBO J,10:2105-2110.
13. Jeneson, J. 4., de Snoo, M. W., Verlinden, N. 4., Joosten, B. J., Doomenbal, 4., Schot, 4., and Evefts, M. E. (2007). **Treadmill but not wheel running improves fatigue resistance of isolated extensor digitorLul longus muscle in mice**. Acta Physi ol (Oxf) 190, 151-161.
14. Macias, M., Dwomik, 4., Ziemińska, E., FehL, S., Schachner, M., Czarkowska-Baucir, J., and Skup, M. (2007). **Locomotol exercise alters expression of plo-brain-derived neurotrophic factor, brain-derived neurotrophic factor and its receptor TrkB in the spinal cord of adult rats**. Eur J Neurosci 25, 2425-2444.

15. Mohammadkhani R (2001). **Effect of one session of resistance exercise on NT4/5 proteins in slow and fast muscles of wistar rats.** Thesis, tarbiat modares university, Tehran.
16. Ogborn D I, Gardiner P F. (2010). Effects of exercise and Muscle Type on BDNF, NT4/5 and TrKB Expression in skeletal muscle, *Muscle nerve*;41:385-391.
17. Sakuma K, Watanabe K, Sano M, Uramoto I, Nakano H, Li YJ, et al(2001). **A possible role for BDNF , NT-4 and TrKB in the spinal cord and muscle of rat subjected to mechanical overload, bupivacaine injection and axotomy.** *Brain Res* ; 907:1-19.
18. Simon M. Poter R, Brown R. (2003). **Effect of NT4/5 and BDNF delivery to damaged sciatic nerves on phenotypic recovery of fast and slow muscle fibers.** *Eur J Neurosci* 18, 2460-2466
19. Thoenon H(1991). **The changing scene of neurotrophic factor.** *Trends Neurosci*; 14:165-170.
20. walker UA, Schon EA (1998). **Neurotrophin-4 is up-regulated in ragged-red fibers associated with pathogenic mitochondrial DNA mutation.** *Ann Neurol*;43:536-540