University of Birjand

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport Research Paper

Spring 2025, 13(33), 32-44

Received: Dec 15, 2023 Revised: Mar 09, 2024 Accepted: Mar 10, 2024

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of four-week of aerobic training with repetition of one and two sessions per day on the gene expression of TrkB and PI3K receptor in hippocampal rats with spinal cord injury

Mahdi Ziaee Bashirzad [1], Sadegh Cheragh-Birjandi[2]*, Mohamad Amin Younessi Heravi[3], Reza Salarinia[4]

1. Ph.D Candidate in Exercise Physiology , Department of Physical Education and Sport Sciences, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

2. Assistant Professor at Department of Physical Education and Sport Sciences, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

3. Assistant Professor at Department of Medical Physics and Radiology, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran.

4. Assistant Professor at Department of Advanced Technologies, School of Medicine, Bojnurd, Iran.

Extended Abstract

Background and Aim: Spinal cord injuries result in the loss of sensation and voluntary movement in the lower limbs (1). Tropomyosin receptor kinase B (TrkB), a neurotrophin receptor, was named after the oncogene that led to its discovery (2). Phosphatidylinositol-3-kinases (PI3Ks) are a group of multifunctional enzymes involved in various metabolic processes that regulate cellular physiology (3).

Aerobic exercise has been proposed as a promising noninvasive strategy for maintaining motor and respiratory muscle flexibility following spinal cord injury (4). This study aimed to examine the effects of four weeks of aerobic training, with one or two sessions per day, on motor performance and hippocampal TrkB and PI3K gene expression in rats with spinal cord injury.

Materials and Methods: Forty-two male rats (age: 10–12 weeks, weight: 225–275 g) were randomly divided into six equal groups as: healthy control group, healthy control group + first training protocol, healthy control group + second training protocol, spinal cord injury group, spinal cord injury group + first training protocol, and spinal cord injury group + second training protocol. Seven rats were included in each group (5). All groups, except the healthy control group, underwent general anesthesia and spinal cord injury (SCI). Anesthesia was induced via intraperitoneal injection of ketamine (75 mg/kg body weight) and xylazine (10 mg/kg body weight).

After marking the incision site, a 2.5 cm longitudinal incision was made along the spine. The superficial and deep fascia were

Cite this article:
Ziaee Bashirzad M, Cheragh-Birjandi S, Younessi Heravi MA, Salarinia R. The effect of four-week of aerobic training with repetition of one and two sessions per day on the gene expression of TrkB and PI3K receptor in hippocampal rats with spinal cord injury. Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport. 2025;13(33):32-44.

*** Corresponding Author; Adress; Department of Physical Education and Sport Sciences, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran;**
Email: s_birjandi2001@yahoo.com

https://doi.org/10.22077/jpsbs.2024.7050.1841

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee **Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport (JPSBS)**. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

dissected, and the muscles adjacent to the T9–T11 vertebrae were retracted. Laminectomy was performed at the T11 vertebra using a dental burr attached to a small drill. The spinal cord was then injured by delivering a 25 mm drop of a 10-gram weight via a hollow cylinder while the vertebrae were stabilized using a stereotaxic device. The muscles and fascia were immediately sutured using absorbable suture (No. 4-0). The healthy groups underwent laminectomy only without spinal cord injury (6).

After two weeks of recovery, all rats performed two types of aerobic exercise with one and two training sessions per day for four weeks. After the training period, motor and molecular tests were performed to measure changes in hippocampal TrkB and PI3K receptor gene expression. One-way analysis of variance was used to compare changes between groups at a significance level of $p<0.05$.

Results: The results of TrkB receptor gene expression among the groups show that a significant increase in gene expression was observed in the healthy control + one training session per day group compared to the healthy control group and in the healthy control + two training sessions per day group compared to the control group. However, the increase in gene expression in one training session per day compared to the two training sessions per day group was not significantly different. TrkB gene expression in the spinal cord injury model was significantly reduced compared to the control group. This decrease in expression was observed in both spinal cord injury + one and two training sessions per day groups compared to the control group. In addition, TrkB gene expression showed a significant increase in the spinal cord injury + one and two training sessions per day groups compared to the spinal cord injury group. On the other hand, significant changes in gene expression were observed between the spinal cord injury + one training session per day group and the spinal cord injury + two training sessions per day group. PI3K receptor gene expression in the healthy control group was significantly increased compared to the spinal cord injury groups. This was while the changes in the healthy control group showed a significant decrease compared to the healthy control + one and two training sessions per day groups. A significant decrease was observed between the spinal cord injury group and the spinal cord injury + one training session per day group and spinal cord injury + two training sessions per day group. There was no significant difference in gene expression between the spinal cord injury + one training session per day group and spinal cord injury + two training sessions per day group. Similarly, no difference was observed between the healthy control group + one training session per day group and the healthy control + two training sessions per day group.

Conclusion: Exercise protocols, particularly those performed twice daily, not only enhance motor function in animals with spinal cord injury but also positively influence TrkB and PI3K receptor gene expression. These effects may contribute to axonal growth and neuronal survival, playing a crucial role in spinal cord injury recovery.

Keywords: Aerobic exercise, Tropomyosin receptor kinase B, Phosphoinositide 3-kinase, Spinal cord injury.

Ethical Considerations: This study was conducted with the approval of the Ethics Committee of the Vice Chancellor for Research and Technology of North Khorasan University of Medical Sciences with the ethics code IR.NKUMS.REC.1402.058.

Compliance with ethical guideline: Ethical guidelines for working with laboratory animals were strictly followed, including provisions for adequate food, water, and appropriate housing conditions. Ethical considerations were also observed in the humane euthanasia of the mice.

Funding: This research is based on a doctoral thesis from Islamic Azad University, Bojnourd Branch, and was conducted without any financial support.

Conflicts of interest: There are no conflicts of interest regarding this article.

نشریه مطالعات کاربردی علوم‌زیستی در ورزش
مقاله پژوهشی
بهار ۱۴۰۴، دوره ۱۳، شماره ۳۳، ص ۴۴-۳۲
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۴ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

تأثیر چهار هفته تمرینات هوازی با تکرار یک و دو جلسه در روز بر بیان ژن گیرنده TrkB و PI3K هیپوکمپ رت‌های مبتلا به ضایعه نخاعی

مهدی ضیایی بشیرزاد[۱]، صادق چراغ بیرجندی[۲*]، محمد امین یونسی هروی[۳]، رضا سالاری نیا[۴]

۱. دانشجوی دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.
۲. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.
۳. استادیار گروه فیزیک پزشکی و رادیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران.
۴. استادیار گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: ضایعات نخاعی شرایطی است که به واسطه از بین رفتن حس، حرکت و حرکات ارادی اندام‌های تحتانی رخ می‌دهد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی با تکرار یک و دو جلسه در روز بر عملکرد حرکتی و بیان ژن گیرنده تروپومیوزین کیناز B (TrkB) و فسفاتیدیل اینوزیتول-۳-کیناز (PI3K) هیپوکمپ رت‌های مبتلا به ضایعه نخاعی بود. **روش تحقیق:** این مطالعه تجربی روی رت‌های نر بالغ و جوان اجرا شد. حیوانات به‌طور تصادفی به شش گروه شامل کنترل سالم، آسیب نخاعی، آسیب نخاعی + پروتکل تمرین اول، کنترل سالم + پروتکل تمرین اول، آسیب نخاعی + پروتکل تمرین دوم و کنترل سالم + پروتکل تمرین دوم (هر گروه هفت سر) تقسیم شدند. ابتدا، گروه‌ها (به غیر از گروه‌های کنترل سالم) تحت بیهوشی عمومی و آسیب نخاعی قرار گرفتند. پس از دو هفته ریکاوری، همه رت‌ها به‌مدت چهار هفته، دو نوع تمرین هوازی با تکرار یک و دو جلسه تمرین در روز را انجام دادند. پس از دوره تمرینی، آزمون های حرکتی و مولکولی جهت سنجش تغییرات بیان ژن گیرنده TrkB و PI3K هیپوکمپ انجام گردید. از روش تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه تغییرات بین گروهی در سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ استفاده شد. **یافته‌ها:** اجرای چهار هفته تمرینات یک و دو جلسه‌ای هوازی موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن گیرنده TrkB و PI3K در گروه‌های آسیب نخاعی + پروتکل تمرین اول و آسیب نخاعی + پروتکل تمرین دوم نسبت به گروه آسیب نخاعی شد. تغییرات معنی‌داری در بیان ژن PI3K بین دو گروه آسیب نخاعی با دو تمرین هوازی مشاهده نشد، اما تغییرات در بیان ژن TrkB بین گروه آسیب نخاعی + پروتکل تمرین اول و آسیب نخاعی + پروتکل تمرین دوم معنی‌دار بود. آزمون حرکتی نیز بهبودی عملکرد حرکتی را در هفته چهارم در گروه آسیب نخاعی + پروتکل تمرین دوم نشان داد. **نتیجه‌گیری:** پروتکل‌های تمرینی (به ویژه تمرین با تکرار دو بار در روز) علاوه بر ایجاد بهبود حرکتی در حیوانات دچار ضایعه نخاعی، بر بیان ژن گیرنده TrkB و PI3K مؤثر است و می‌تواند عاملی برای رشد آکسونی و بقای نورونی در بهبودی ضایعه نخاعی باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، تروپومیوزین کیناز B، فسفاتیدیل اینوزیتول-۳-کیناز، آسیب طناب نخاعی.

* نویسنده مسئول، آدرس: بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی؛
پست الکترونیک: s_birjandi2001@yahoo.com
https://doi.org/10.22077/jpsbs.2024.7050.1841

مقدمه

ضایعات نخاعی شرایطی است که به واسطه از بین رفتن حس و حرکات ارادی اندام‌های تحتانی رخ می‌دهد. علی‌رغم تلاش‌های محققان و پیشرفت‌های قابل توجه در درمان و جراحی‌های بعد از ضایعه و ظهور روش‌های سلول درمانی با استفاده از سلول‌های بنیادی در این دسته از بیماران، تاکنون هیچ درمان مؤثری برای بیماری‌های سیستم عصبی و بالاخص ضایعات نخاعی ارائه نشده است (۱). تاکنون، محققان روش‌های مختلف را برای درمان ضایعات نخاعی مطرح کرده‌اند؛ علاوه بر مطالعات بالینی، مطالعات پایه‌ای در این زمینه با در نظر گرفتن ابعاد مختلف آن انجام شده است. مطالعات صورت گرفته از ابعاد مختلف دارویی و غیردارویی بر درمان و پیشگیری از این بیماری متمرکز شده‌اند. در محل اتصال سیناپس‌ها، انتقال پیام‌های عصبی از دو طریق الکتریکی و شیمیایی صورت می‌پذیرد. در نوع شیمیایی، فرآیند انتقال پیام‌های عصبی توسط نوروترانسمیترهایی[1] همچون اپی‌نفرین، نوراپی‌نفرین و استیل‌کولین صورت می‌پذیرد. با مطالعه عوامل درگیر در این روند، می‌توان نحوه عملکرد سلول‌های عصبی و چگونگی انتقال پیام عصبی را بررسی کرد (۲).

فرآیند تحریک فعال‌سازی‌ترمیم، توسط عوامل رشدی صورت می‌گیرد. هنوز اثرات اختصاصی عوامل رشدی متفاوت بر بافت‌های محیطی مانند عضلات و انواع مختلف نورون‌ها کاملاً مشخص نشده است. این احتمال وجود دارد که یک نوروتروفین اثر زیادی روی یک نورون خاصی داشته باشد، درصورتی‌که فاقد اثر بر روی نورون دیگر است (۳). تروپومیوزین کینازها از گیرنده‌های نوروتروفین می‌باشند و نام گیرنده تروپومیوزین کیناز B[2] (TrkB) از آنکوژنی که منجر به کشف آن شد، منشاء می‌گیرد (۴). مولکول‌های پیام رسانی که گیرنده‌های تروپومیوزین کینازی را فعال می‌کنند، هورمون‌های پپتیدی و یا پروتئینی محلول متصل به غشاء می‌باشند که بسیاری از آنها اولین بار به‌عنوان عوامل رشدی انواع خاصی از سلول‌ها شناخته شدند (۵). فسفاتیدیل اینوزیتول- ۳-کیناز[3] (PI3Ks) نیز گروهی از آنزیم‌های چندوجهی هستند که نقش مهمی در فرآیندهای متابولیک مختلف بازی می‌کنند و بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژی سلولی را تنظیم می‌نمایند. نشان داده شده که PI3K بقاء سلولی، شروع رشد نورونی و توانایی تحریک گلوتامات را میانجی‌گری می‌کند (۶). همچنین، ممکن است یک نورون خاص پاسخ‌های متفاوتی به نوروتروفین‌های متفاوت بدهد (۷). با توجه به نتایج امیدبخش در مدل‌های حیوانی، هنوز درمان قطعی برای این بیماران وجود ندارد. شاید یکی از دلایل آن پاسخ مکانیسم‌های پیچیده آبشار سیگنالینگ دستگاه عصبی مرکزی در برابر ایجاد ضایعه در انسان باشد (۸). ورزش تأثیر گسترده ای بر سلامت و عملکرد محیطی دارد و با فعال کردن مسیرهای عصبی مربوطه، اختلالات متعدد سیستم عصبی مرکزی[4] (CNS) را بهبود می بخشد. در حالی‌که مکانیسم‌های دقیقی که توسط آن اتفاق می‌افتد، هنوز مشخص نشده است. تمرینات ورزشی به بیمار آسیب نخاعی این امکان را می‌دهد تا با درگیر شدن در انجام حرکات، برخی از مشکلات خود را کاهش دهد (۹). تمرینات هوازی می تواند یک استراتژی غیرتهاجمی امیدوارکننده برای حفظ انعطاف پذیری عضلات حرکتی و تنفسی به دنبال آسیب نخاعی باشد (۱۰). با توجه به دانش ما تا به امروز پژوهشی که تأثیر یک جلسه تمرین در روز را با دو جلسه تمرین در روز مقایسه کند، انجام نشده است. در یک پژوهش، هارتمن[5] و دیگران در سال ۲۰۰۷، به مقایسه بین جلسات تمرینی دو بار در روز و یک بار در روز در وزنه برداران مرد پرداختند. نتایج نشان داد که هیچ مزیت اضافی از افزایش دفعات تمرین روزانه در وزنه برداران مرد در سطح ملی وجود نداشت، اما افزایش قدرت کشش ایزومتریک زانو[6] (ISO) و فعال سازی عصبی عضلانی[7] (EMG) برای گروه دو بار در روز ممکن است توجیه منطقی برای تقسیم بار تمرینی جهت کاهش خطر تمرین بیش از حد، ارائه دهد (۱۱).

با توجه به اینکه در درمان‌های مؤثر، ترکیبی از چند روش برای بهبودی بیماری مد نظر قرار می‌گیرد، بررسی تاثیر تمرینات ورزشی بر عوامل نوروتروفیک که در بقا و رشد نورون‌ها، بازسازی آکسون ها، تنظیم رشد آکسون و

1. Neurotransmitters
2. Tropomyosin receptor kinase B
3. Phosphatidylinositol 3-kinase
4. Central nervous system
5. Hartman
6. Isometric knee-extension strength
7. Neuromuscular activation

دندریت‌ها، تشکیل سیناپس و بقای نورون های بالغ نقش مهمی دارند، ضروری به نظر می‌رسد. از این رو، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی یک و دو جلسه در روز بر بیان ژن TrkB و PI3K هیپوکمپ رت‌های مبتلا به ضایعه نخاعی بود.

روش تحقیق

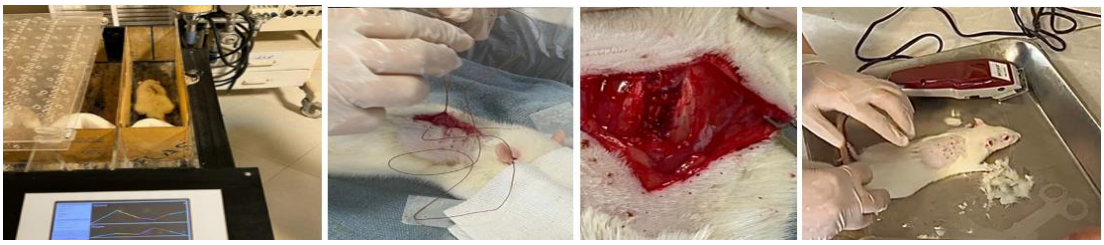
این مطالعه تجربی، روی رت‌های نژاد ویستار و در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی انجام شد. ۴۲ رت نر بالغ و جوان با دامنه وزنی ۲۲۵ تا ۲۷۵ گرم و دامنه سنی ۱۰ تا ۱۲ هفته، وارد مطالعه شدند. حیوانات در دمای محیطی ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت حدود ۴۵ درصد و چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگه‌داری شدند. رت‌ها در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری به ابعاد ۲۵ × ۲۷ × ۴۳ سانتی‌متر قرار گرفتند، به‌طوری که در دسترسی به آب و غذای استاندارد برای آن‌ها محدودیتی وجود نداشت. حیوانات به‌طور تصادفی به شش گروه مساوی تقسیم شدند (گروه کنترل سالم، گروه کنترل سالم + پروتکل تمرین اول، گروه کنترل سالم + پروتکل تمرین دوم، گروه آسیب نخاعی، گروه آسیب نخاعی + پروتکل تمرین اول و گروه آسیب نخاعی + پروتکل تمرین دوم). بر اساس مطالعات مشابه، در هر گروه هفت رت وارد مطالعه شدند (۱۲). تمامی مراحل نگه‌داری و انجام آزمایش‌های حیوانی با رعایت کامل اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید. این مطالعه با تصویب در کمیته اخلاق معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی با کد اخلاق IR.NKUMS.REC.1402.058 انجام شد. از ۴۲ رت به‌کار گرفته در این مطالعه، ۳۳ رت تا پایان مطالعه زنده مانده و مورد بررسی قرار گرفتند. در گروه کنترل سالم یک حیوان، در گروه کنترل سالم + پروتکل تمرین دوم یک حیوان، در گروه آسیب نخاعی دو حیوان، در گروه آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین اول سه حیوان و در گروه آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین دوم دو حیوان تلف شدند.

نحوه ایجاد ضایعه نخاعی: ابتدا رت‌ها توسط تزریق کتامین (۷۵ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و با استفاده از سرنگ انسولین به شکل داخل صفاقی بیهوش شدند. پس از بیهوش شدن حیوان، موهای موضع تراشیده شد و تمام سطح پشتی حیوان با الکل ۷۰ درصد و بعد از آن با بتادین جراحی تمیز و ضدعفونی گردید. برای ایجاد برش جراحی پس از مشخص کردن محل برش، پوست را به اندازه ۲/۵ سانتی‌متر به سمت سری و دمی حیوان و در امتداد ستون فقرات، برش داده شد. پس از بریدن فاسیای سطحی و عمقی و کنار زدن عضلات مجاور زائده خاری مهره T9 تا T11، برای برش لامینا از یک فرز دندانپزشکی متصل به یک دریل کوچک استفاده شد. لامینوکتومی در مهره T11 انجام گرفت. سپس مهره‌ها توسط دستگاه استریوتکس ثابت شده و توسط وزنه ۱۰ گرمی یک ضربه روی نخاع از ارتفاع ۲۵ میلی‌متری یا استفاده از استوانه توخالی اعمال گردید. سپس، بلافاصله عضلات و فاسیا با استفاده از نخ جذب شماره ۴-۰ بخیه زده شد. گروه‌های سالم فقط جراحی لامینکتومی شدند و آسیب نخاعی بر آن‌ها وارد نشد. پس از جراحی، شرایط نگه‌داری و تغذیه‌ای رت‌ها مانند رت‌های سالم بود. برای اطمینان از ایجاد ضایعه نخاعی، آزمون حرکتی BBB[1]، ۲۴ ساعت بعد از جراحی اجرا شد. در این آزمون، میزان حرکت حیوان در دو مفصل تحتانی معیار ارزیابی بود. رت‌هایی که دچار ضایعه نخاعی شده بودند، در صورتی‌که نمره آسیب دیدگی‌شان از سه بیشتر بود، از مطالعه خارج شدند. شروع ارزیابی بهبود حرکتی بر اساس این آزمون نیز دو هفته پس از ایجاد ضایعه نخاعی بود. برای این آزمون، ابتدا هر رت به طور جداگانه در داخل محفظه باز[2] قرار گرفت و دو مشاهده‌گر بی‌اطلاع به مدت چهار دقیقه به رت‌ها بر اساس سیستم نمره دهی BBB نمره دادند (۱۳). این آزمون با عدم حرکت از سه مفصل اندام تحتانی آغاز شده و نمره صفر برای آن در نظر گرفته می‌شود. در ادامه با هر حرکت در سه مفصل اندام تحتانی نمرات افزایش یافته و در نهایت تا گام برداشتن و هماهنگی اندام فوقانی و تحتانی با تحمل وزن و حرکت پنجه‌ها، نمره ۲۱ برای آن در نظر گرفته می‌شود.

به منظور جلوگیری از تجمع طولانی مدت ادرار در مثانه، کشیده شدن بیش ازحد آن و در شدیدترین حالت، پارگی دیواره آن، که می‌تواند به مرگ حیوان منجر شود، تخلیه مثانه به صورت روزانه و دو بار در روز به مدت یک هفته

1. Basso Beattie Bresnahan locomotor
2. Open field

انجام شد. همچنین، به منظور کاهش درد، تقویت سیستم ایمنی و همچنین کنترل عفونت‌های ناشی از جراحی، پنج میلی‌لیتر شربت حل شده استامینوفن در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب به مدت سه روز، ویتامین B به صورت تزریق عضلانی یک دهم میلی‌لیتر روزانه به مدت یک هفته و جنتامایسین یک دهم میلی‌لیتر به صورت روزانه تا سه روز برای حیوانات در تمامی گروه‌ها در نظر گرفته شد (۱۲). شکل یک مراحل ایجاد ضایعه نخاعی و انجام آزمایش‌ها را نشان می‌دهد.



مرحله ۱ مرحله ۲ مرحله ۳ مرحله ۴

شکل ۱. مراحل ایجاد ضایعه نخاعی و انجام آزمایش ها ،۱ تراشیدن موهای پشت حیوان ،۲ انجام لامینکتومی ،۳ بخیه زدن پشت حیوان و ریکاوری پس از جراحی ،۴ انجام تمرینات ورزشی در حیوان دارای ضایعه نخاعی.

نحوه اجرای پروتکل تمرین: پس از بررسی ضایعه نخاعی توسط آزمون حرکتی BBB و اطمینان از حصول ضایعه، رت‌ها به مدت دو هفته نگه‌داری و مراقبت شدند و پس از گذشت دو هفته، پروتکل‌های تمرین هوازی که در مطالعات قبلی استفاده شده بودند، به صورت زیر انجام گرفت. پروتکل تمرینی اول شامل دویدن روی نوارگردان با سرعت ثابت نه متر در دقیقه و شش روز در هفته و یک نوبت در روز به مدت چهار هفته، صبح‌ها انجام شد. زمان تمرین در هفته اول ۱۰ دقیقه، هفته دوم ۱۵ دقیقه، هفته سوم ۲۰ دقیقه و در هفته چهارم ۳۰ دقیقه بود (۱۴). پروتکل تمرینی دوم دویدن روی نوارگردان با سرعت ثابت هشت متر در دقیقه و شش روز در هفته و دو نوبت در روز (یک نوبت صبح و یک نوبت عصر با سرعت و مدت یکسان) به مدت چهار هفته اجرا شد. زمان تمرین در هفته اول پنج دقیقه، در هفته دوم پنج تا ۱۰ دقیقه (با پنج دقیقه آغاز شد و هر روز یک دقیقه افزایش یافت)، در هفته سوم ۱۰ تا ۱۵ دقیقه (با ۱۰ دقیقه آغاز شد و هر روز یک دقیقه افزایش یافت) و در هفته چهارم ۱۵ دقیقه بود (۱۴).

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین و در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی، ابتدا رت‌ها با تزریق صفاقی کتامین (۷۵ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس، رت‌ها به منظور جمع آوری نمونه بافتی جراحی شدند. بدین ترتیب که ابتدا، پس از شکستن جمجمه، مغز به صورت کامل و بدون آسیب خارج شد. سپس، دو نیمکره بدون تخریب به کمک تیغ بیستوری[1] ۲۴ از هم جدا شدند، در آخر هم جداسازی هیپوکامپ از نیمکره روی مخ انجام گرفت و به میکروتیوب یک و نیم میلی‌لیتری حاوی بافر RNA-Later منتقل و در انتها، نمونه‌ها برای نگهداری، به فریزر منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بقایای حیوانات در چاه سپتیک معدوم شد.

بررسی بیان ژن: آزمون‌های مولکولی به منظور سنجش تغییرات بیان ژن گیرنده TrkB و PI3K با استفاده از روش Real time qPCR انجام شدند. بر اساس کیت استخراج RNA (Addbio Co, Korea)، RNA استخراج و سنتز cDNA انجام شد و در فریزر منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای بیان ژن گیرنده TrkB و PI3K، پرایمر به صورت Exon junc-tion-Exon توسط نرم افزارهای پرایمر ۳[2] و نرم افزار آنلاین IDT طراحی‌شده و جهت سنتز به شرکت ژن فناوران مستقر در شهر اصفهان، سفارش داده شد. توالی و مشخصات این پرایمرها در جدول یک بیان شده است. مقادیر مورد نیاز Real time qPCR برای ژن هدف GDNF و GFRα1 مطابق با جدول دو انجام شد. برنامه دمایی شامل چهار مرحله ذکرشده، در جدول سه تنظیم شد. در انتها، داده های حاصل با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ محاسبه و میزان بیان ژن‌های هدف با نتیجه حاصل از ژن رفرنس Actin β، نرمالیزه شدند.

1. Scalpel
2. Primer3

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای ژن

پرایمرها	هدف	TM (oC)	PCR Product
F: CGCGAGTACAACCTTCTTGC R: ATACCCACCATCACACCCTG	Actin β	۵۹/۵۶ ۵۹/۰۸	۲۰۰
F: GGGAGCATCTCTCGGTCTATG R: TATCTCAGCTACCCATCCAGG	TrkB	۵۹/۶۴ ۵۸/۱۱	۱۶۰
F: CCAGTGCTGTGTCAGGTC R: TGGGCAGTACGAACTCAATG	PI3K	۵۹ ۵۷/۵۵	۱۶۳

جدول ۲. مقادیر مورد نیاز مواد لازم جهت انجام واکنش Rael-time PCR

مواد لازم	حجم مورداستفاده (میکرو لیتر)
مسترمیکس سایبرگرین	۱۰
مخلوط جفت پرایمر	۲
DNase free H2O	۶
cDNA	۲

جدول ۳. برنامه دمایی برای انجام واکنش Real-time PCR

مرحله	دما	زمان	سیکل
Hold	۹۵ درجه	۳ دقیقه	۱ بار
دناتوراسیون	۹۵ درجه	۳۰ ثانیه	۴۵ بار تکرار
اتصال پرایمر	۵۸ درجه	۲۰ ثانیه	
طویل سازی	۷۲ درجه	۳۰ ثانیه	

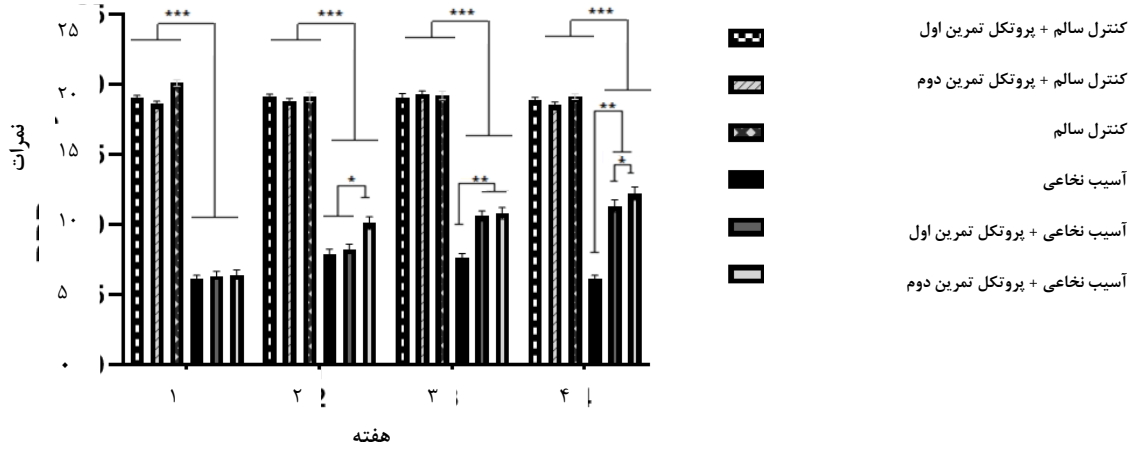
روش‌های آماری: پس از استخراج نتایج، از آمار توصیفی برای تعیین شاخص‌های میانگین و انحراف‌معیار و همچنین، ترسیم جدول‌ها و نمودارها استفاده شد. با توجه به تایید طبیعی بودن داده‌ها از طریق آزمون شاپیرو - ویلک[1]، برای پی بردن به صحت پیش فرض‌های تحقیق و تجزیه و تحلیل اطلاعات و بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها، از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه تغییرات واریانس بین گروهی استفاده شد. همچنین، به منظور مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون تعقیبی توکی[2] استفاده شد. تجزیه وتحلیل اطلاعات توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و ترسیم نمودارها توسط نرم‌افزار گراف پد پریزم[3] در سطح معنی‌داری p≤۰/۰۵ انجام گردید.

یافته‌ها

ارزیابی آزمون حرکتی ۲۴ ساعت پس از جراحی و ایجاد ضایعه نخاعی، نمره کمتر از سه بودن را برای حیوانات نشان داد. میانگین نمرات آزمون حرکتی دو به دوی گروه‌ها در هفته‌های بعد از آسیب مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل دو نمودار مقایسه نمرات آزمون حرکتی بین گروه‌ها را نشان می‌دهد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده میانگین نمرات آزمون حرکتی در گروه دریافت کننده تمرین دوم در هفته دوم بعد از آسیب و گروه تمرین اول در هفته سوم بعد از آسیب نخاعی، در مقایسه با نمرات آزمون حرکتی گروه آسیب، افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). همچنین، نمرات گروه کنترل سالم در همه هفته‌ها در مقایسه با سایر گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱). میانگین نمره حرکتی در هفته چهارم بعد از آسیب به‌ترتیب ۲۰،۲۰/۵، ۲۱، ۸/۲، ۱۱/۵ و ۱۲/۲ در گروه‌های کنترل سالم، کنترل سالم +

1. Shapiro-Wilk
2. Tukey
3. GraphPad prism



شکل ۲. مقایسه نمرات آزمون حرکتی در بین گروه ها، p<۰/۰۵ *؛ p<۰/۰۱ **؛ p<۰/۰۰۱ *، داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف‌معیار ارائه شده‌اند.**

پروتکل تمرین اول، کنترل سالم + پروتکل تمرین دوم، آسیب نخاعی، آسیب نخاعی + پروتکل تمرین اول و آسیب نخاعی + پروتکل تمرین دوم بود. مطابق دستورالعمل ذکر شده در بخش قبل، استخراج RNA صورت گرفت و پس از بررسی غلظت و خلوص آن، یک نمونه RNA استخراج‌شده به ژل آگارز ۱/۵ درصد منتقل شد. مشاهده باندهای مربوط به 18srRNA (۱/۹ Kb) و 28srRNA (۵ Kb) صحت استخراج RNA را تأیید کرد. جدول چهار نتایج تحلیل واریانس را برای بیان ژن TrKB و PI3K بین گروه‌های کنترل سالم، آسیب نخاعی، آسیب نخاعی + پروتکل تمرین اول، کنترل سالم + پروتکل تمرین اول، آسیب نخاعی + پروتکل تمرین دوم، کنترل سالم + پروتکل تمرین دوم نشان می‌دهد. همانطور که از جدول چهار مشاهده می‌شود، آزمون تحلیل واریانس یک طرفه تغییرات معنی‌دار بیان ژن‌ها را در بین گروه‌های تحت مطالعه نشان می‌دهد.

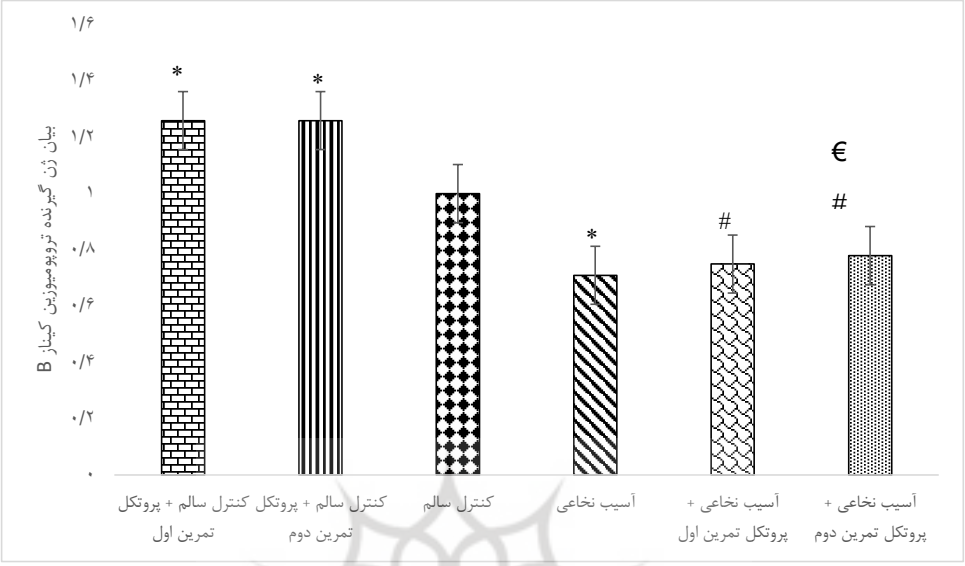
نتایج بیان ژن گیرنده TrkB در بین گروه‌ها نشان می‌دهد که در گروه کنترل سالم + پروتکل تمرین اول نسبت به گروه کنترل سالم و در گروه کنترل سالم + پروتکل تمرین دوم نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار بیان ژن مشاهده شد. اما افزایش بیان ژن در گروه پروتکل تمرین اول نسبت به گروه پروتکل تمرین دوم تفاوت معنی‌داری نداشت. بیان ژن TrkB در مدل آسیب نخاعی نسبت به

جدول ۴. توصیف و مقایسه میزان بیان ژن گیرنده تروپومیوزین کیناز B و فسفاتیدیل اینوزیتول-۳-کیناز گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	گروه‌ها	میانگین±انحراف‌استاندارد	F	p
گیرنده فسفاتیدیل اینوزیتول-۳-کیناز	کنترل سالم + پروتکل تمرین اول	۱/۳۵ ± ۰/۰۲	۹۲۶/۱۳	۰/۰۰۱*
	کنترل سالم + پروتکل تمرین دوم	۱/۳۲ ± ۰/۰۲		
	کنترل سالم	۱/۰۰ ± ۰/۰۰		
	آسیب نخاعی	۰/۸۱ ± ۰/۰۳		
	آسیب نخاعی + پروتکل تمرین اول	۰/۸۸ ± ۰/۰۲		
	آسیب نخاعی + پروتکل تمرین دوم	۰/۸۸ ± ۰/۰۱		
گیرنده تروپومیوزین کیناز	کنترل سالم + پروتکل تمرین اول	۱/۲۶ ± ۰/۰۱	۲۶۱/۳۰	۰/۰۰۱*
	کنترل سالم + پروتکل تمرین دوم	۱/۲۶ ± ۰/۰۲		
	کنترل سالم	۱/۰۰ ± ۰/۰۰		
	آسیب نخاعی	۰/۷۱ ± ۰/۰۱		
	آسیب نخاعی + پروتکل تمرین اول	۰/۷۵ ± ۰/۰۱		
	آسیب نخاعی + پروتکل تمرین دوم	۰/۷۸ ± ۰/۰۱		

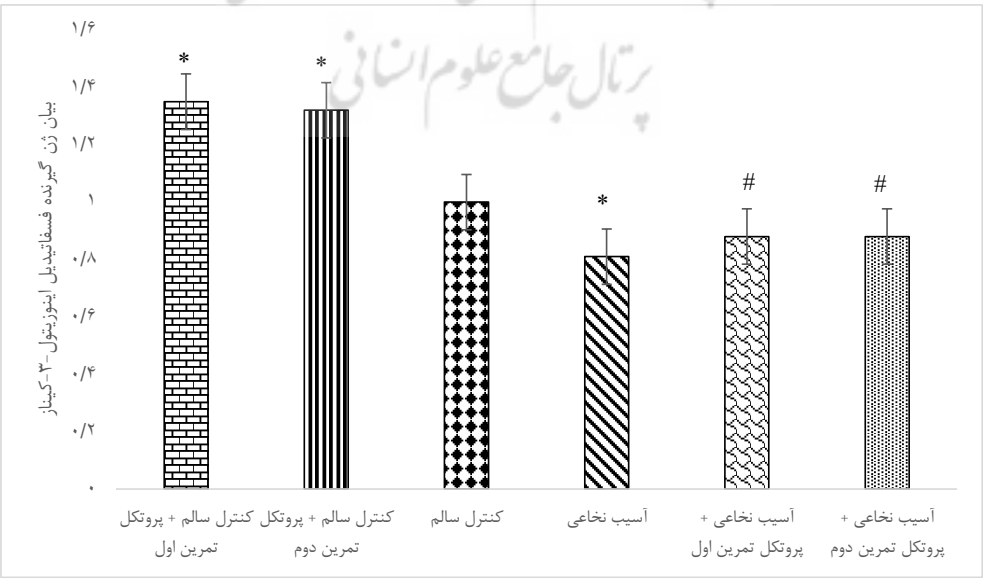
*نشانه تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها در سطح p≤ ۰/۰۵.

گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. این کاهش بیان در هر دو گروه آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین اول و دوم نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. علاوه بر این، بیان ژن TrkB افزایش معنی‌داری را در گروه آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین اول و دوم نسبت به گروه آسیب نخاعی نشان داد. از طرف دیگر، تغییرات معنی‌دار در بیان ژن TrkB، در گروه آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین اول و گروه آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین دوم، کمتر بود (جدول چهار، شکل سه).



شکل ۳. مقایسه بیان ژن گیرنده TrkB در گروه‌های مورد مطالعه؛ * تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم؛ # تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب نخاعی؛ € تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب نخاعی + پروتکل تمرین اول؛ سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ≥p.

بیان ژن گیرنده PI3K در گروه کنترل سالم نسبت به گروه‌های آسیب نخاعی افزایش معنی‌داری داشت. این درحالی بود که تغییرات گروه کنترل سالم نسبت به گروه کنترل سالم + پروتکل تمرین اول و دوم، کاهش معنی‌داری را نشان داد. کاهش معنی‌داری بین گروه آسیب نخاعی با گروه آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین اول و آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین دوم مشاهده شد. بیان ژن بین گروه آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین اول و آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین دوم تفاوت معنی‌داری نداشت. به صورت مشابهی، بین گروه کنترل سالم+ پروتکل تمرین اول و کنترل سالم+ پروتکل تمرین دوم نیز تفاوتی مشاهده نشد (جدول و شکل چهار).



شکل ۴. مقایسه بیان ژن گیرنده PI3K در گروه‌های مورد مطالعه؛ * تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم؛ # تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب نخاعی؛ سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ≥p.

بحث

اجرای چهار هفته تمرینات یک و دو جلسه‌ای هوازی موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن TrKB و PI3K در گروه پروتکل تمرین اول و پروتکل تمرین دوم شد. عملکرد حرکتی در هفته چهارم با دو جلسه تمرین نیز نتایج بهتری را نشان داد که این امر ناشی از بهبود نتایج با استفاده از به کارگیری دو جلسه تمرین است. در مطالعه ای وو[1] و دیگران (۲۰۱۶) با بررسی اثر چهار هفته تمرین روی نوارگردان به مدت ۲۰ دقیقه در هر جلسه، دو جلسه در هر روز، و پنج روز در هر هفته روی رت‌های مبتلا به ضایعه نخاعی که در ناحیه مهره‌های پشتی (T8-T10) صورت گرفت؛ به این نتیجه رسیده اند که عملکرد حرکتی و نسبت بیان ژن پروتئینی عامل نوروتروفیک مشتق از مغز[2] (BDNF) به TrKB، در گروه تمرینی افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند (۱۵). در مطالعه‌ای دیگر، شب خیز (۲۰۲۱) به بررسی تأثیر دو نوع تمرین استقامتی تداومی و تناوبی بر سطوح BDNF و TrKB در هیپوکمپ رت‌های نر بالغ پرداختند (۱۶). در این تحقیق ۱۸ سر رت ویستار نر بالغ هشت هفته به طور تصادفی و مساوی به سه گروه کنترل، دویدن تداومی و دویدن تناوبی تقسیم شدند. حیوانات گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته روی دستگاه نوارگردان دویدند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی حیوانات قربانی شدند و هیپوکمپ آن‌ها از هر دو نیمکره برداشته شد. طبق نتایج این تحقیق، در گروه دویدن تداومی در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری در BDNF و TrkB وجود داشت. همچنین تغییرات مشابهی برای گروه دویدن تناوبی مشاهده شد، اما تفاوت معنی‌داری بین دو نوع تمرین مشاهده نشد (۱۶). در مطالعه‌ای اثر یک جلسه تمرین مقاومتی (شامل بالارفتن از یک نردبان یک متری) بر بیان mRNA نوروتروفین-۵/۴ و TrKB در عضلات کند و تند انقباض رت‌ها بررسی شد (۱۷). در این مطالعه نردبان به ارتفاع یک متر و دارای ۲۶ پله و زاویه ۸۵ درجه نسبت به زمین بود و برای اعمال اضافه بار از بستن وزنه‌هایی به میزان ۳۰ درصد از وزن حیوان به دم آنها استفاده شد. در پایان، پژوهشگران گزارش کرده‌اند که یک جلسه تمرین مقاومتی باعث کاهش معنی‌دار بیان mRNA نوروتروفین-۵/۴ در عضله نعلی می‌شود؛ در حالی که، تغییری در عضله خم کننده بلند انگشتان دیده نشد. همچنین، تمرین تاثیری بر بیان mRNA گیرنده تروپومیوزین کیناز B در هر دو عضله نعلی و خم کننده بلند انگشتان نداشت (۱۷). نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر با یافته‌های وو و دیگران (۲۰۱۶) (۱۵) و شب‌خیز و دیگران (۲۰۲۱) (۱۶) همسو است، اما نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های اسلامی و دیگران (۲۰۱۴) (۱۷) همسو نیست. در مطالعه‌ای (فنگ[3] و دیگران، ۲۰۱۳) اثر دویدن ۳۰ دقیقه روی نوارگردان با سرعتی معادل ۱۵ متر در دقیقه برای پنج روز در هر هفته بررسی شد. نتایج نشان داد که مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt منجر به افزایش معنی‌دار PI3K/Akt در هیپوکمپ مغز رت‌ها می‌شود (۱۸). نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر با یافته‌های فنگ و دیگران (۲۰۱۳) همخوانی دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میانگین نمرات آزمون حرکتی در گروه دریافت کننده تمرین دوم در هفته دوم بعد از آسیب و گروه تمرین اول در هفته سوم بعد از آسیب نخاعی، در مقایسه با نمرات آزمون حرکتی گروه آسیب نخاعی، افزایش معنی‌داری پیدا کرده است. بنابراین در این مطالعه با به‌کارگیری پروتکل‌های ورزشی افزایش کارآیی حرکتی در رت‌های دارای آسیب نخاعی مشاهده شد. نتایج ارزیابی‌های حرکتی نیز بهبود حرکتی حیوان دچار ضایعه نخاعی را نسبت به گروه آسیب نخاعی و گروه‌های سالم نشان می‌دهد. فعالیت‌بدنی برنامه‌ریزی شده، ساختاریافته و تکراری طراحی‌شده، موجب تشکیل شبکه‌های نخاعی و عضلات اسکلتی می‌شود که اثرات مفید قابل توجهی بر مجموعه‌ای از سیستم‌های عملکردی دارد (۱۹). ورزش به سرعت و به‌طور برجسته بر جوانه‌زدن دندریتیک، اتصالات سیناپسی، تولید و تنظیم انتقال دهنده‌های عصبی، و هموستاز یونی تأثیر می‌گذارد. طبق مطالعات اخیر، افزایش نوروتروفین‌ها ناشی از ورزش به‌عنوان سنگ بنای پیوند دهنده بسیاری از این اثرات به‌هم مرتبط است (۲۰). در کل، تعداد کمی از مطالعات اطلاعات دقیقی را در مورد حجم و فراوانی تمرین گزارش کرده‌اند. همچنین گمان می‌رود تاکنون مطالعه‌ای به بررسی تاثیر تمرین با فراوانی یک جلسه و دو جلسه در روز در آزمودنی‌های مبتلا به ضایعه نخاعی نپرداخته باشد. لذا به بررسی پژوهش‌های مشابه می‌پردازیم. همسو با مطالعه حاضر، پژوهش

1. Wu
2. Brain-derived neurotrophic factor
3. Fang

هانسن[1] و دیگران (۲۰۰۵) به مقایسه سازگاری عضلات اسکلتی در تمرین دو بار در روز در مقابل تمرین یک بار در روز پرداختند. نتایج نشان داد که تمرین دو بار در روز ممکن است نسبت به تمرین یک بار در روز، تاثیرگذارتر باشد (۲۱). در پژوهشی نیز شمسایی و دیگران (۲۰۲۱) به مقایسه اثر یک و دو جلسه تمرین ورزشی استقامتی و قدرتی بر عملکرد سیستم ایمنی پرداختند. نتایج نشان دهنده این بود که انجام بیش از یک جلسه فعالیت ورزشی در روز، به ویژه فعالیت‌هایی که ماهیت استقامتی دارند، احتمالاً می تواند منجر به کاهش عملکرد سیستم ایمنی و افزایش وضعیت کاتابولیکی شود (۲۲). بویوم[2] و دیگران (۲۰۰۲) (۲۳)، در پژوهشی بهترین زمان بازیافت بین دو جلسه تمرین شدید در یک روز را پنج تا شش ساعت گزارش کردند. رانسن[3] و دیگران (۲۰۰۲) (۲۴) نیز ضمن بررسی تاثیر مدت زمان بازیافت بین دو جلسه تمرین بر پاسخ‌های ایمنی و هورمونی، به این نتیجه رسیدند که سه ساعت فاصله بین دوره‌های تمرینی در روز به نسبت دوره بازیافت شش ساعته، موجب تغییرات بیشتری در عوامل ایمنی و هورمونی می‌شود. بنابراین کاهش عملکرد سیستم ایمنی پس از دو جلسه ورزشی احتمالا به دلیل دوره بازیافت ناکافی بوده است (۲۲). این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر ناهمسو است. تمرین روی نوارگردان به‌طور گسترده‌ای یک راهبرد مؤثر برای بازیابی عملکرد حرکتی پس از آسیب نخاعی در نظر گرفته می‌شود. با این‌حال، شدت تمرینی خاص که ریکاوری را بهینه می‌کند و مبنای مکانیکی زیربنایی این ریکاوری، نامشخص است. از این‌رو، در این مطالعه به بررسی تأثیر دو نوع تمرین با حجم های مختلف روی نوارگردان در رت‌های دچار ضایعه نخاعی از طریق ارزیابی مولکولی بافت هیپوکمپ پرداخته شد. همراهی پروتکل تمرین روی نوارگردان با دریافت داروهای رایج در درمان آسیب نخاعی، سنجش میزان نوروژنز نخاعی در گروه‌های مورد مطالعه و miRNA های مسیر PI3K/AKT نیز می‌تواند در تحقیقات بعدی مورد بررسی قرار گیرد. انجام این تحقیق همراه با مشکلات زیادی از جمله تلف شدن رت‌ها در مراحل متعدد لامینکتومی، ضایعه نخاعی و نگه‌داری پس از آن بود. به‌طوری که، از مجموع ۴۲ سر رت مورد آزمایش، ۳۳ سر زنده ماندند. مهم‌ترین مشکل، نگه‌داری رت‌های دارای ضایعه نخاعی به‌مدت شش هفته بود. بیشترین تلفات مربوط به گروه‌های ضایعه نخاعی به‌خصوص در دو هفته اول بعد از عمل جراحی بود که علت آن زخم شدن و خوردن پنجه‌های پا بر اثر بی‌حسی و در نتیجه عفونت شدید یا پاره‌شدن مثانه به‌طور خود به خود، بر اثر احتباس ادراری و یا پاره‌شدن آن در حین تخلیه بر اثر فشار بوده است.

نتیجه‌گیری: این مطالعه با هدف بررسی تأثیر دو نوع برنامه تمرینی بر بیان ژن گیرنده TrkB و PI3K و در مدل تجربی آسیب نخاعی انجام شد. نتایج نشان داد اجرای چهار هفته تمرینات یک و دو جلسه‌ای هوازی موجب افزایش معنی‌داری در میزان بیان ژن گیرنده TrkB و PI3K نسبت به گروه آسیب نخاعی می‌شود. علاوه براین، پروتکل‌های تمرینی در ایجاد بهبودی حرکتی در حیوانات دچار ضایعه نخاعی، نیز نقش داشتند. بنابراین می‌تواند عاملی برای رشد آکسونی و بقای نورونی در بهبودی ضایعه نخاعی باشند. بهبودی عملکرد حرکتی در هفته چهارم در گروه آسیب نخاعی+ پروتکل تمرین دوم نشان داده شد که این تغییرات نشان دهنده تاثیر بیشتر دو جلسه تمرین است.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

قدردانی و تشکر

نویسندگان از پرسنل محترم آزمایشگاه حیوانات و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی کمال تشکر را دارند.

1. Hansen
2. Bøyum
3. Ronsen

منابع

1. Mariano ED, Batista CM, Barbosa BJAP, Marie SKN, Teixeira MJ, Morgalla M, et al. Current perspectives in stem cell therapy for spinal cord repair in humans: a review of work from the past 10 years. Arquivos de Neuro-Psiquiatria. 2014;72:451-6. https://doi.org/10.1590/0004-282X20140051

2. Zaninetti M, Dubois-Dauphin M, Lindstrom J, Raggenbass M. Nicotinic acetylcholine receptors in neonatal motoneurons are regulated by axotomy: an electrophysiological and immunohistochemical study in human bcl-2 transgenic mice. Neuroscience. 2000;100(3):589-97. https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00303-1

3. Jain KK, Jain KK. Neurotrophic factors. Applications of Biotechnology in Neurology. Springer Science & Business Media; 2013:295-360. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-272-8

4. Martin-Zanca D, Hughes SH, Barbacid M. A human oncogene formed by the fusion of truncated tropomyosin and protein tyrosine kinase sequences. Nature. 1986;319(6056):743-8. https://doi.org/10.1038/319743a0

5. Acobson AG, Gordon R. Changes in the shape of the developing vertebrate nervous system analyzed experimentally, mathematically and by computer simulation. Journal of Experimental Zoology. 1976;197(2):191-246. https://doi.org/10.1002/jez.1401970205

6. Hauswirth AG, Ford KJ, Wang T, Fetter RD, Tong A, Davis GW. A postsynaptic PI3K-cII dependent signaling controller for presynaptic homeostatic plasticity. Elife. 2018;7:e31535. https://doi.org/10.7554/eLife.31535

7. Pezet S, McMahon SB. Neurotrophins: mediators and modulators of pain. Annual Review of Neuroscience. 2006;29(1):507-38.https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112929

8. Fitch MT, Silver J. CNS injury, glial scars, and inflammation: Inhibitory extracellular matrices and regeneration failure. Experimental Neurology. 2008;209(2):294-301. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.05.014

9. Sadeghi M, Ghasemi G. Effect of 12 weeks Rebound Therapy Exercise on constipation and abdominal pain in Spinal Cord Injury patients. Journal for Research in Sport Rehabilitation. 2017;5(10):41-8. 9. [In Persian]. https://doi.org/10.22084/rsr.2017.13570.1326

10. Jesus I, Michel-Flutot P, Deramaudt TB, Paucard A, Vanhee V, Vinit S, et al. Effects of aerobic exercise training on muscle plasticity in a mouse model of cervical spinal cord injury. Scientific Reports. 2021;11(1):112. https://doi.org/10.1038/s41598-020-80478-9

11. Hartman MJ, Clark B, Bemben DA, Kilgore JL, Bemben MG. Comparisons between twice-daily and once-daily training sessions in male weight lifters. International Journal of Sports Physiology and Performance. 2007;2(2):159-69. https://doi.org/10.1123/ijspp.2.2.159

12. Salarinia R, Sadeghnia HR, Alamdari DH, Hoseini SJ, Mafinezhad A, Hosseini M. Platelet rich plasma: Effective treatment for repairing of spinal cord injury in rat. Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica. 2017;51(3):254-7. https://doi.org/10.1016/j.aott.2017.02.009

13. de Barros Filho TEP, Molina AEIS. Analysis of the sensitivity and reproducibility of the Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) scale in Wistar rats. Clinics. 2008;63(1):103-8. https://doi.org/10.1590/S1807-59322008000100018

14. Chae C-H, Jung S-L, An S-H, Jung C-K, Nam S-N, Kim H-T. Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. Journal of Physiology and Biochemistry. 2011;67:235-41. https://doi.org/10.1007/s13105-010-0068-9

15. Wu Q, Cao Y, Dong C, Wang H, Wang Q, Tong W, et al. Neuromuscular interaction is required for neurotrophins-mediated locomotor recovery following treadmill training in rat spinal cord injury. PeerJ. 2016;4:e2025. https://doi.org/10.7717/peerj.2025

16. Shabkhiz F, Mojtahedi S, Akbarnejad Gharehlou A, Amirshaghaghi F. Effects of two types of continues and interval endurance training on protein levels of brain derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor in the hippocampus of adult male rats. Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport. 2021;9(18):48-57. [In Persian]. https://doi.org/10.22077/jpsbs.2020.3121.1542

17. Eslami R, Gharakhanlou R, Mowla J, Rajabi H, Mohammadkhani R. Effect of resistance exercise on protein content and mRNA expression of NT 4/5 in rat slow and fast muscles. Journal of Gorgan University of Medical Sciences. 2014;16(1):35-41. [In Persian]. http://goums.ac.ir/journal/article-1-1971-fa.html

18. Fang ZH, Lee CH, Seo MK, Cho H, Lee JG, Lee BJ, et al. Effect of treadmill exercise on the BDNF-mediated pathway in the hippocampus of stressed rats. Neuroscience Research. 2013;76(4):187-94. https://doi.org/10.1016/j.neures.2013.04.005

19. Ditterline BEL, Aslan SC, Randall DC, Harkema SJ, Castillo C, Ovechkin AV. Effects of respiratory training on heart rate variability and baroreflex sensitivity in individuals with chronic spinal cord injury. Archives of Physical Medicine and Rehabilitation. 2018;99(3):423-32. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2017.06.033

20. Bilchak JN, Caron G, Côté M-P. Exercise-induced plasticity in signaling pathways involved in motor recovery after spinal cord injury. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(9):4858. https://doi.org/10.3390/ijms22094858

21. Hansen AK, Fischer CP, Plomgaard P, Andersen JL, Saltin B, Pedersen BK. Skeletal muscle adaptation: training twice every second day vs. training once daily. Journal of Applied Physiology. 2005;98(1):93-9. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00163.2004

22. Shamsaei N, Abdi H. The effect of one and two sessions endurance and resistance exercise training per day on serum levels of IgA and cortisol in soccer players. EBNESINA. 2021;23(2):26-35. [In Persian]. https://doi.org/10.22034/23.2.26

23. Bøyum A, Rønsen O, Tennfjord V, Tollefsen S, Haugen A, Opstad P, et al. Chemiluminescence response of granulocytes from elite athletes during recovery from one or two intense bouts of exercise. European Journal of Applied Physiology. 2002;88:20-8. https://doi.org/10.1007/s00421-002-0705-2

24. Ronsen O, Kjeldsen-Kragh J, Haug E, Bahr R, Pedersen BK. Recovery time affects immunoendocrine responses to a second bout of endurance exercise. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 2002;283(6):C1612-C20. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00242.2002