Sport Physiology **Volume 13, No 49, 2021, Page 199-222**

Research Paper

Effect of Combined Training and Play in an Enriched Environment During Prepuberty Period on Hippocampal Structure in Adult Rats

S. Rostami[1], A. HaghParast[2], R. Fayazmilani[3]

1. Ph.D. Student in Exercise Physiology, Shahid Beheshti University
2. Professor of Neuroscience Research Center, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences
3. Assistant Professor of Exercise Physiology, Shahid Beheshti University (Corresponding Author)

Received: 2020/08/27 **Accepted: 2020/10/31**

Abstract

It is important to maintain the structure and function of the brain throughout life. The main important brain developmental processes occur during the critical periods, especially prepuberty. Thus, environmental interventions during this critical period can lead to significant and permanent changes in developing structures such as the hippocampus. Here, the current study investigated the effect of combined training and play in an enriched environment during prepuberty on the hippocampal structure in adult rats. For this purpose, in this longitudinal study, 27 male rats were divided into three groups of combined training, play in an enriched environment, and control. Interventions were performed for three weeks (28-48 postnatal days). Subsequently, all animals were kept in the standard cages without any intervention until adulthood (48-85 postnatal days). After this period, the animals were sacrificed and hippocampal tissues were removed. The Western blotting and Nissl staining methods were used to assess the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and the number of cells in the hippocampus, respectively. The results showed that BDNF levels ($P<0.0001$) and the number of cells in the hippocampus ($P<0.05$, $P<0.001$) increased significantly in the groups with training and play in enriched environment. According to the findings of this study, it can be concluded that training interventions such as organized exercise and active play during sensitive developmental periods have strong and long-lasting effects on the hippocampal structure by increasing BDNF expression.

Keywords: Brain Development, Combined Training, Play in an Enriched Environment, Prepubertal Period

1. Email: rostami.s@yahoo.com
2. Email: haghparast@sbmu.ac.ir
3. Email: r_milani@sbu.ac.ir

Extended Abstract

Background and Purpose

It is important to maintain the structure and function of the brain throughout life. The development of the brain takes place significantly after birth. The most important brain developmental processes occur during the critical periods, especially prepuberty. The remarkable changes in cortical and subcortical structures, changes in receptor and growth factor expression, and myelination are evident (1). The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) plays an important role in neuronal plasticity as a neurotrophic factor. BDNF is produced endogenously throughout the brain, with high levels present in the hippocampus (2). The regions DG and CA of the hippocampus, which are important for the process of neurogenesis and long-term potentiation (LTP), respectively, may influence this structure (3). Thus, environmental interventions during this critical period can lead to significant and permanent changes in developing structures such as the hippocampus. Molecular mechanisms, particularly neurotrophic factors, likely support brain plasticity in adulthood through structural changes (4). Here, the current study investigated the effect of combined training and play in an enriched environment during prepuberty on hippocampal structure in adult rats.

Materials and Method

For this purpose, the present study was longitudinal and used 27 male Wistar rat pups, weighing 18.76 ± 2.1 obtained from Laboratory Animals of Razi Vaccine and Serum Research Institute, Iran. All animals were housed in a standard temperature (22-23 ˚C), humidity of 55% and reversed 12-h light-dark cycle (lights on 8 am) with ad libitum access to food and water. After weaning, animals were acclimated to the treadmill and ladder for three days (23-25 days) and then divided into three groups: combined training, play in an enriched environment, and control (n=9). The combined training consisted of endurance and resistance training, each performed on odd and even days, respectively. First, the maximal running capacity test was performed to determine the intensity of the training according to the previous specific protocols (5). After a five-minute warm-up, endurance training was performed at 70% of maximal running speed (14-16 meters per minute). The training duration was also gradually increased to 45 minutes in the last week (6). Based on maximal exercise capacity, a resistance training protocol was performed by climbing the ladder. The first through fourth movements were carried out at 50, 75, 90 and 100 % of maximum load, respectively and then weights of 7 g gradually added. There were a total of eight climbs up the ladder with a two-minute rest (7). In

addition, an animal park was designed to create an enriched environment. The prepubescent rats were housed together in a large metal cage with toys and objects of various shapes and textures. The animals also had access to running wheels and ladders for voluntary physical activity. In general, this environment provided the animals with opportunities to play and have fun (8). Water bottles were attached to the cage walls and food containers were placed on the floor. The interventions lasted for three weeks (28-48 postnatal days). Subsequently, all animals were kept in the standard cages without any intervention until adulthood (48-85 postnatal days). After this period, the animals were sacrificed and hippocampal tissues were removed for biochemical and histological evaluation. The Western blotting method was used to measure protein BDNF according to the manufacturer's instructions. Equal amounts of samples (25 μg) were added to 8 % SDS-PAGE gel wells and GAPDH protein was considered as reference or control protein. The number of cells in DG and CA regions of the hippocampus was determined by Nissl staining. The Paxinos and Watson atlas of the rat brain was used to section the hippocampus. Images of the tissue section were then taken and Image J software was applied to count the cells in a range of approximately 6000 μm. The data were analyzed using SPSS 19. Accordingly, the normal distribution of the data was confirmed using the Kolmogorov-Smirnov test and the one-way ANOVA test used to detect significant differences between groups ($P<0.05$). In this study, ethical principles were considered according to the laws of protection and care of laboratory animals, approved by the National Ethics Committee in biomedical research of Shahid Beheshti University. In this regard, the number of animals was determined based on the research need, and harm to the animals during care and training was minimized.

Results

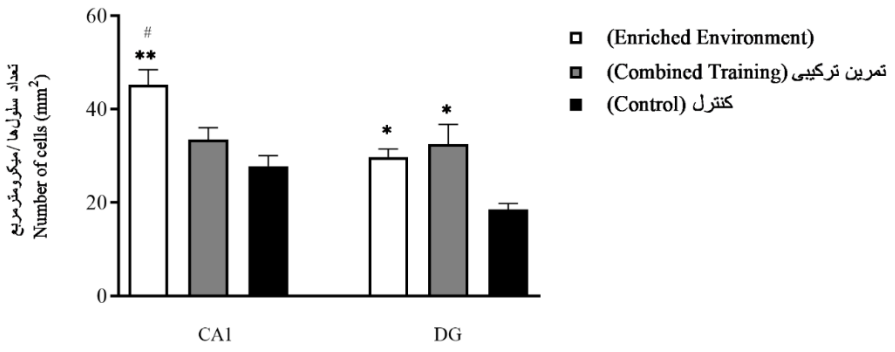
Western blot results showed a significant difference in BDNF protein levels between groups [($F (2, 15) = 14/82$, $P=0.0003$)]. Tukey's post hoc test also revealed that BDNF levels increased significantly in the groups with combined training ($P=0.0015$) and play in an enriched environment ($P=0.0004$) after three weeks of intervention. On the other hand, we found that the number of cells in the DG region of the hippocampus was significantly different between the three groups [($F (2, 9) = 7.157$, $P=0.0138$)]. In this regard, the number of cells increased significantly in both the combined training ($P=0.0150$) and play groups in an enriched environment ($P=0.0443$) compared to the control group. Furthermore, the number of cells in the CA1 region was different [$F (2, 9) =10.59$, $P=0.0043$]. The results of the post-hoc test demonstrated that the

number of cells in the CA1 region was significantly higher in the play group in an enriched environment than in the combined training (P=0.0344) and control (P=0.0037) groups. No significant difference was also found in the combined training group compared to the control one (P=0.3431).

Conclusion

The combination of endurance and resistance training may play an important role in increasing BDNF levels and subsequent cellular changes. Increased cell number in the DG region of the hippocampus might be indirectly associated with cell proliferation and increased exercise-induced neurogenesis (9). In addition to the type of exercise, animal studies have reported that growth factors and neurogenesis are also affected by the intensity of training too. Moderate stress probably leads to the observed beneficial effects (10). On the other hand, an enriched environment may allow animals to exercise in spaces such as a well-equipped playground (11). Play experiences involving endurance (cycling) and resistance (ladder climbing) activities, as well as cognitive stimulation are effective in increasing BDNF levels and the number of cells in the DG and CA1 regions of the hippocampus (12). According to the findings of this study, it can be concluded that training interventions such as organized exercise and active play during sensitive developmental periods have strong and long-lasting effects on the hippocampal structure by increasing BDNF expression.

Keywords: Brain Development, Combined Training, Play in an Enriched Environment, Prepubertal Period



Effect of play in an enriched environment and combined training during prepuberty on the number of cells in DG and CA1 regions of the hippocampus.

*** P<0.05 ** P<0.001, vs. control group. # P<0.05 vs. Combined training group**

References

1. Voss MW, Nagamatsu LS, Liu-Ambrose T, Kramer AF. Exercise, brain, and cognition across the life span. Journal of applied physiology. 2011;111(5):1505-13.
2. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. Experimental physiology. 2009;94(10):1062-9.
3. Hueston CM, Cryan JF, Nolan YM. Stress and adolescent hippocampal neurogenesis: diet and exercise as cognitive modulators. Translational psychiatry. 2017;7(4):e1081-e.
4. Macpherson H, Teo W-P, Schneider LA, Smith AE. A life-long approach to physical activity for brain health. Frontiers in aging neuroscience. 2017;9:147.
5. Huang A-M, Jen C, Chen H, Yu L, Kuo Y-M, Chen H-I. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. Journal of neural transmission. 2006;113(7):803-11.
6. Chen H-I, Lin L-C, Yu L, Liu Y-F, Kuo Y-M, Huang A-M, et al. Treadmill exercise enhances passive avoidance learning in rats: the role of down-regulated serotonin system in the limbic system. Neurobiology of learning and memory. 2008;89(4):489-96.
7. Hornberger Jr TA, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. Canadian journal of applied physiology. 2004;29(1):16-31.
8. Sampedro-Piquero P, Begega A. Environmental enrichment as a positive behavioral intervention across the lifespan. Current neuropharmacology. 2017;15(4):459-70.

9. Cassilhas R, Lee K, Fernandes J, Oliveira M, Tufik S, Meeusen R, et al. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. Neuroscience. 2012;202:309-17.
10. Lou S-j, Liu J-y, Chang H, Chen P-j. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. Brain research. 2008;1210:48-55.
11. Pellis SM, Pellis VC, Himmler BT. How play makes for a more adaptable brain: a comparative and neural perspective. American Journal of Play. 2014;7(1):73-98.
12. Mustroph ML, Chen S, Desai SC, Cay EB, DeYoung EK, Rhodes JS. Aerobic exercise is the critical variable in an enriched environment that increases hippocampal neurogenesis and water maze learning in male C57BL/6J mice. Neuroscience. 2012;219:62-71.

فیزیولوژی ورزشی دوره ۱۳ ، شماره ۴۹ ،بهار ۱۴۰۰ .صص ۲۲۲-۱۹۹

مقالهٔ پژوهشی

تأثیر یک دوره تمرین ترکیبی و بازی در محیط غنی‌شده در دورهٔ پیش از بلوغ بر ساختار هیپوکمپ موش‌های صحرایی بزرگسال

سمیرا رستمی[1]، عباس حق‌پرست[2]، رعنا فیاض میلانی[3]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی

۲. استاد مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی (نویسندهٔ مسئول)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۰

چکیده

حفظ ساختار و عملکرد مغز در طول زندگی از اهمیت فراوانی برخوردار است. فرایندهای کلیدی توسعهٔ مغزی در دوره‌های بحرانی رشد به‌ویژه در دورهٔ پیش از بلوغ برجسته‌اند؛ ازاین‌رو مداخلات محیطی در طی این دورهٔ حساس رشدی ممکن است به ایجاد تغییرات درخور توجه و ماندگار در ساختارهای درحال‌رشد مانند هیپوکمپ منجر شوند. در این مطالعه تأثیر تمرین ترکیبی و بازی در محیط غنی‌شده در دورهٔ پیش از بلوغ بر ساختار هیپوکمپ موش های صحرایی بزرگسال ارزیابی شد. بدین‌منظور پژوهش به‌صورت طولی انجام شد و ۲۷ سر موش صحرایی نر پس از دورهٔ شیردهی به سه گروه تمرین ترکیبی، بازی در محیط غنی‌شده و کنترل تقسیم شدند. مداخلات به‌مدت سه هفته در دوران قبل از بلوغ (۲۸ تا ۴۸ روزگی) اجرا شدند و در ادامه تا دورهٔ بزرگسالی (۴۸ تا ۸۵ روزگی) همهٔ حیوانات بدون مداخله درون قفس‌های استاندارد نگهداری شدند. پس از این دوران، مراحل تشریح و بافت‌برداری هیپوکمپ انجام شد. روش وسترن بلات برای اندازه‌گیری عامل رشد عصبی مشتق از مغز (BDNF) و رنگ‌آمیزی نیسل برای ارزیابی تعداد سلول‌ها در نواحی هیپوکمپ استفاده شد. نتایج آزمون آنوای یک‌طرفه نشان داد سطوح پروتئین BDNF ($P < 0.0001$) و تعداد سلول‌ها در هیپوکمپ ($P < 0.05$، $P < 0.001$) در هر دو گروه تمرین ترکیبی و بازی در محیط غنی‌شده افزایش معناداری داشتند. با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که مداخلات تمرینی ازجمله تمرینات سازمان‌یافته و بازی فعال در دوره‌های حساس رشدی با افزایش میزان BDNF، اثرات قوی و ماندگاری را در ساختار هیپوکمپ ایجاد می‌کنند.

واژگان کلیدی: توسعهٔ مغزی، تمرین ترکیبی، بازی در محیط غنی‌شده، دورهٔ پیش از بلوغ.

1. Email: rostami.s@yahoo.com
2. Email: haghparast@sbmu.ac.ir
3. Email: r_milani@sbu.ac.ir

مقدمه

حفظ ساختار و عملکرد مغز در طول زندگی از اهمیت فراوانی برخودار است. تحریکات در طول دورۀ رشدی ممکن است بلوغ عملکردی مغز را تعدیل کند و یکپارچگی همیشگی آن را تعیین کند (۱). فعالیت بدنی به‌عنوان تحریکی مثبت در این دوره، مزایای فراوانی ازجمله بهبود سیستم قلبی-عروقی، حفظ وزن مطلوب، جلوگیری از عوامل خطرزای بیماری‌های قلبی-عروقی ازجمله افزایش فشارخون و پیشرفت تحصیلی را نشان داده است (۳، ۲). مغز به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اندام‌های بدن کانون توجه مطالعات اخیر بوده است. توسعۀ مغزی به میزان درخور توجهی پس از تولد اتفاق می‌افتد. تغییرات چشمگیر در ساختارهای قشری و زیرقشری، تغییر در میزان گیرنده‌ها، عوامل رشدی و انتقال‌دهنده‌های عصبی در دوره‌های حساس یا بحرانی رشد ازجمله دورۀ پیش از بلوغ مشهود است؛ ازاین‌رو رویدادهایی که در طی این دوره با شکل‌پذیری عصبی زیاد، اتفاق می‌افتند می‌توانند برای مغز درحال‌رشد و حفظ ساختار آن در طول عمر حیاتی باشند (۴).

فعالیت ورزشی و نمونه‌های غنی‌سازی رفتاری از قبیل محیط غنی‌شده[1] (EE) به‌عنوان محرک‌های محیطی به پاسخ‌های شکل‌پذیری درخور توجهی از تغییرات مولکولی تا سلولی و عملکردی منجر شده‌اند (۵). در این باره شماری از مطالعات مقطعی در دورۀ پیش از بلوغ انجام شده‌اند. پنج هفته دویدن اجباری روی نوارگردان که ۲۱ روز بعد از تولد در موش‌های صحرایی نر انجام شد، سطوح پروتئین عامل رشد عصبی مشتق از مغز[2] (BDNF) در هیپوکمپ را افزایش داد که همراه با افزایش حافظۀ فضایی بود (۶). همچنین هشت هفته دویدن اجباری روی نوارگردان در موش‌های صحرایی نر که ۲۲ روز پس از تولد شروع شد، تعداد سلول‌های عصبی در سراسر هیپوکمپ و به‌خصوص ناحیۀ شکنج دندانه‌دار[3] (DG) را افزایش داد و به بهبود عملکرد در آزمون ماز آبی موریس منجر شد (۷). از سوی دیگر، قرارگیری درمعرض محیط‌های غنی‌شده با افزایش BDNF و تغییرات متنوع سلولی در تعداد، ساختار و عملکرد سلول‌های عصبی همراه بوده است. غنی‌سازی شامل شرایط خانه‌گزینی در قفس‌های بزرگ و جذاب است که در آن حیوانات در گروه‌های بزرگ اجتماعی و در حضور انواع اشیای تحریک‌کننده (شامل اسباب‌بازی‌ها، اشیا با اشکال و بافت‌های مختلف) قرار می‌گیرند و آزادانه بازی می‌کنند (۸). در پژوهشی غنی‌سازی محیط در موش‌های صحرایی نر دارای مننژیت پیش از دورۀ بلوغ بررسی شد. هنگامی که حیوانات به ۲۱ روزگی رسیدند، مداخله شروع شد و تا ۶۰ روزگی آن‌ها ادامه داشت. افزایش میزان سطوح BDNF در هیپوکمپ و مایع مغزی-

1. Enriched Environment
2. Brain-Derived Neurotrophic Factor
3. Dentate Gyrus

نخاعی در گروه موش‌های مننژیتی که درمعرض محیط غنی بودند و همچنین بهبود حافظه در آزمون‌های شناختی مشاهده شد (۸).

مطالعات انجام‌شده دربارهٔ تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر ساختار و عملکرد مغز در دورهٔ پیش از بلوغ محدودند و با تأکید بر تمرینات ورزشی هوازی و به‌صورت مقطعی انجام شده‌اند. شواهد جدید نشان می‌دهند که مزایای فعالیت بدنی در دورهٔ کودکی ممکن است به دوره‌های بعدی زندگی گسترش یابد (۹). در این باره نشان داده شده است که فعالیت بدنی در دورهٔ کودکی حداقل تاحدی از چاقی در دوره‌های بعدی زندگی محافظت می‌کند و خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی را کاهش می‌دهد (۱۱، ۱۰). همچنین به‌وضوح نشان داده شده است که فعالیت‌های بدنی در دوران پیش از بلوغ، به‌خصوص فعالیت‌های با تحمل وزن در دستیابی به تودهٔ استخوانی بزرگ مؤثر بوده‌اند و از ابتلا به پوکی استخوان در سالمندان محافظت می‌کنند (۱۲). در مدل‌های حیوانی نیز مطالعاتی طولی به‌منظور ارزیابی عملکردهای شناختی انجام شده‌اند. در پژوهشی گزارش شد که سه روز استرس (شنای اجباری، سکوی مرتفع و شوک به پا) در طول دورهٔ پیش از بلوغ، عملکردهای شناختی را در موش‌های صحرایی نر بزرگسال کاهش داد (۱۳). درمقابل، تمرین هوازی در طول دورهٔ نوجوانی (۲۱ تا ۶۰ روزگی) به افزایش حافظهٔ فضایی و یادگیری در دورهٔ بزرگسالی منجر شد (۶)؛ بااین‌حال مطالعات اندکی در این باره انجام شده‌اند و سازوکارهای سلولی و مولکولی به‌طور دقیق بررسی نشده‌اند.

چندین سیستم مولکولی ازجمله عوامل نوروتروفیک در میانجیگری اثرات مثبت نقش دارند. در این میان BDNF اهمیت زیادی دارد؛ چراکه از بقا و رشد بسیاری از زیرمجموعه‌های عصبی حمایت می‌کند. همچنین به‌عنوان میانجیگر کلیدی کارایی سیناپسی، اتصالات عصبی و شکل‌پذیری ظاهر می‌شود (۱۴). BDNF به‌صورت درون‌زا در سراسر مغز با غلظت‌های زیاد در هیپوکمپ و قشر مغز تولید می‌شود و پیشنهاد شده است که عامل مهمی برای میانجیگری اثرات طولانی‌مدت فعالیت ورزشی بر هیپوکمپ است (۱۵). هیپوکمپ به‌عنوان بخشی از سیستم لیمبیک از نواحی مهمی تشکیل شده است؛ ازجمله DG که جایگاه مهمی برای وقوع نوروژنز محسوب می‌شود و ناحیهٔ CA1[1] که در تقویت طولانی‌مدت (LTP)[2] مهم است. این دو ناحیه به‌عنوان سازوکارهای مهم سلولی بر ساختار هیپوکمپ تأثیر می‌گذارند (۱۶).

سال‌های ابتدایی زندگی معمولاً بهترین زمان برای تعامل با فعالیت بدنی و انتقال الگوهای مثبت سلامتی مطرح شده‌اند. در این زمینه بیشتر مطالعات طولی بر بهبود ابعاد مختلف سلامت جسمانی

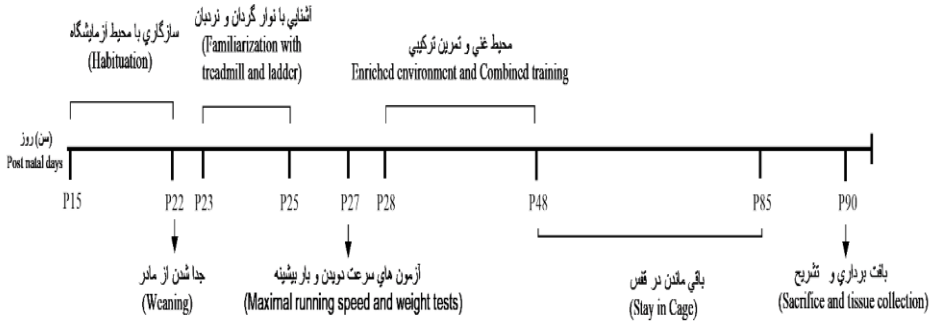
1. Cornu Ammonis-1
2. Long-Term Potentiation

تمرکزک رده‌اند و توسعهٔ مغزی با این رویکرد کمتر بررسی شده است. هیپوکمپ به‌عنوان یکی از جایگاه‌های مهم در فرایندهای توسعهٔ عصبی، نقش اساسی در سیستم عصبی مرکزی دارد. ازآنجاکه تأثیر محیط بر طول دورهٔ رشدی بیشتر از بزرگسالی است، رویدادهایی که در طی این دوره با شکل‌پذیری بسیار، اتفاق می‌افتند می‌توانند بر مناطق مغزی درحال‌رشد ازجمله هیپوکمپ بیشترین تأثیر را داشته باشند و با احتمال بیشتری به دورهٔ بزرگسالی منتقل شوند. در این پژوهش فرض شد که مداخلات تمرینی پیش از بلوغ شامل تمرین ترکیبی و بازی در محیط غنی‌شده- که اجباری برای انجام‌دادن فعالیت‌های بدنی وجود ندارد- ممکن است به نتایج متفاوتی در دورهٔ بزرگسالی منجر شوند. سازوکارهای مولکولی که در رأس آن عوامل نوروتروفیک‌اند، احتمالاً با تغییرات ساختاری از شکل‌پذیری مغز در دورهٔ بزرگسالی پشتیبانی می‌کنند؛ ازاین‌رو در مطالعهٔ طولی حاضر، تأثیر یک دوره تمرین ترکیبی و بازی در محیط غنی‌شده در دورهٔ پیش از بلوغ بر ساختار هیپوکمپ موش‌های صحرایی بزرگسال بررسی شد.

روش پژوهش

این مطالعه به‌صورت طولی انجام شد. بیست‌وهفت سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سالم ۱۵ روزه (PND15)[1] با وزن ۲/۱ ± ۱۸/۷۶گرم همراه با چهار مادر از مؤسسهٔ تحقیقاتی رازی خریداری شدند و به محیط آزمایشگاه دانشکدهٔ علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه شهید بهشتی منتقل شدند. حیوانات تا اتمام دورهٔ شیرخوارگی نزد مادر بودند و در همان زمان دورهٔ سازگاری با محیط آزمایشگاه را سپری کردند. سپس موش‌های نابالغ در سن ۲۲ روزگی از مادر جدا شدند و طی سه روز (۲۳ تا ۲۵ روزگی) با نوارگردان و نردبان به‌ترتیب به‌منظور تمرین استقامتی و مقاومتی آشنا شدند. سپس آن‌ها به‌صورت تصادفی به سه گروه تمرین ترکیبی، بازی در محیط غنی‌شده و گروه کنترل تقسیم شدند (تعداد = نُه). مداخلات تا اوایل بلوغ (۴۸ روزگی) انجام شد و در ادامه و از ۴۸ تا ۸۵ روزگی (دورهٔ بزرگسالی) همهٔ حیوانات بدون مداخله درون قفس‌های استاندارد نگهداری شدند (شکل شمارهٔ یک). شرایط محیطی با دمای استاندارد ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت ۴ ± ۵۵ درصد و چرخهٔ معکوس روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعت (روشنایی در ساعت شش صبح) فراهم شد. همچنین حیوانات به‌صورت نامحدود به آب و غذا دسترسی داشتند.

1. Post Natal Day



شکل ۱- طرح تحقیق مطالعه

Figure 1- Experimental design of study

تمرین ترکیبی شامل تمرین‌های ورزشی استقامتی و مقاومتی بود که شش روز در هفته و به‌مدت سه هفته بین ساعات ۱۱ تا ۱۵ انجام شد (۲۸ تا ۴۸ روزگی). تمرینات استقامتی در روزهای زوج و تمرینات مقاومتی در روزهای فرد اجرا شدند. به‌منظور انجام‌شدن تمرین استقامتی، ابتدا همهٔ حیوانات برای دویدن روی نوارگردان سازگار شدند (۱۰ دقیقه در روز با سرعت هشت تا ۱۰ متر در دقیقه) که در سه روز متوالی پیش از آزمون دویدن بیشینه انجام شد. سپس آزمون ظرفیت دویدن بیشینه برای تعیین شدت تمرین مطابق با پروتکل‌های پیشین مشخص، برای هر موش به‌طور جداگانه انجام شد (۱۷). در ادامه تمرین اصلی اجرا شد؛ به این صورت که ابتدا موش‌ها با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و به‌مدت پنج دقیقه گرم کردند. سپس تمرین با ۷۰ درصد سرعت دویدن بیشینه (۱۴ تا ۱۶ متر در دقیقه) انجام شد. مدت زمان تمرین نیز به‌تدریج افزایش پیدا کرد و به ۴۵ دقیقه در هفتهٔ آخر رسید. در پایان سردکردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و مدت زمان پنج دقیقه صورت گرفت (۱۸). همچنین به‌منظور تحریک دویدن موش‌ها روی نوارگردان از شوکر بادی استفاده شد. پیش از شروع تمرین مقاومتی، تمام حیوانات به‌مدت سه روز برای بالارفتن از نردبان سازگار شدند؛ به این ترتیب که روز اول ابتدا به‌مدت دو دقیقه در محفظهٔ استراحت بالای نردبان برای آشنایی با این فضا قرار گرفتند. سپس چهار حرکت بدون وصل‌کردن کیسه و وزنه انجام شد. روز دوم همراه با کیسهٔ خالی (به‌منظور آشناسازی با کیسهٔ حمل وزنه) و روز سوم با ۵۰ درصد از وزن بدن موش، بالارفتن از نردبان انجام شد. برای تعیین وزنه‌های تمرینی، آزمون حمل بار بیشینه مطابق با مطالعات پیشین انجام شد و به‌دنبال آن پروتکل تمرین مقاومتی انجام گرفت؛ به این صورت که حرکات اول تا چهارم با ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد بار بیشینه به‌ترتیب انجام شدند و در ادامه،

افزایش تدریجی بار (معادل با هفت گرم) صورت گرفت. درمجموع، هشت حرکت بالارفتن از نردبان با استراحت‌های دودقیقه‌ای بین حرکات انجام شد (۱۹).

همچنین به‌منظور فراهم‌کردن محیطی غنی پارک حیوانی طراحی شد (شکل شمارهٔ دو). این محیط شامل شرایط خانه‌گزینی حیوانات با هم (تعداد= نُه) در قفس فلزی بزرگ‌تر از حالت استاندارد (40 x 60 x 90cm) و در سه طبقه بود. اجزای این محیط شامل اشیایی با اشکال و بافت‌های مختلف شامل توپ، اسباب‌بازی، طناب وحلقه‌های بالارونده بودند. همچنین به‌منظور فعالیت بدنی داوطلبانه، حیوانات به چرخ‌گردان و نردبان دسترسی داشتند که به‌ترتیب امکان فعالیت‌های هوازی و مقاومتی را فراهم می‌کردند. به‌طورکلی محیط طراحی‌شده زمینه را برای بازی و سرگرمی حیوانات مهیا کرد. موش‌ها به‌مدت سه هفته در این محیط قرار گرفتند و در مقایسه با گروه‌های دیگر در اجرای فعالیت‌های خود آزاد بودند. بطری‌های آب به دیوارهٔ قفس متصل شدند و ظروف غذا نیز در کف قفس قرار گرفتند (۲۰). پس از یک روز استراحت، مراحل تشریح و جداسازی بافت هیپوکمپ انجام شد. در این باره ابتدا حیوانات در محفظهٔ محتوی گاز دی‌اکسیدکربن قرار گرفتند و بی‌هوش شدند.

شکل ۲- خانه‌گزینی حیوانات در محیط غنی‌شده

Figure 2- Animal housing in an enriched environment

برای سنجش پروتئین BDNF روش وسترن بلات طبق دستورالعمل شرکت سازندهٔ کیت انجام شد. ابتدا نمونه‌های بافتی توسط بافر ریپا (RIPA)[1] لیز شدند. سپس سانتریفیوژ (ساخت شرکت اپندورف آلمان با کد 5415R) به‌مدت ۲۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در چهار درجهٔ سانتی‌گراد انجام شد و محلول به‌دست‌آمده جمع‌آوری شد. برای انجام‌دادن وسترن بلات، مقادیر مساوی نمونه (۲۵ میکروگرم) در چاهک‌های ژل SDS-PAGE 8 % اضافه شدند. سپس ژل برای یک تا دو ساعت در ولتاژ ۱۰۰ ولت رانده شد. بعد از اتمام الکتروفورز، انتقال پروتئین از ژل به کاغذ با کمک بافر انتقال انجام شد. به‌منظور رنگ‌آمیزی آنتی‌بادی، بلاکینگ از طریق محلول بلاکینگ انجام شد و پس از آن کاغذ با آنتی‌بادی اولیهٔ ضد BDNF (ساخت شرکت اَبکم آمریکا با شمارهٔ کاتالوگ ab203573)[2] در طول شب انکوبه شد. سپس انکوبه‌شدن با آنتی‌بادی ثانویهٔ ضدموش HRP (ساخت شرکت بیوتکنولوژی سانتاکروز آمریکا با شمارهٔ کاتالوگ sc-516102)[3] انجام شد. همچنین از پروتئین GAPDH به‌عنوان پروتئین مرجع یا کنترل استفاده شد (آنتی‌بادی اولیه با شمارهٔ کاتالوگ ab181603[4] و آنتی‌بادی ثانویهٔ ضدخرگوش HRP با شمارهٔ کاتالوگ ab205718[5] هر دو ساخت شرکت اَبکم آمریکا). در ادامه، آشکارسازی با استفاده از محلول ECL انجام شد و به‌منظور کمّی‌کردن باندهای مشاهده‌شده روی فیلم از نرم‌افزار ایمیجی [6] استفاده شد. بدین‌منظور چگالی باند BDNF نسبت به GAPDH سنجیده شد.

به‌منظور ارزیابی بافتی، پس از بی‌هوشی حیوانات با روش ذکرشده، پرفیوژن ترانس کاردیالی از طریق بافر فسفات سالین (PBS) یک‌دهم مولار (0.1M) و به‌دنبال آن پارافورمالدئید (PF) چهار درصد در بافر فسفات (PB) 0.1M صورت گرفت و بافت‌های هیپوکمپ خارج شدند. در ادامه، ثابت‌کردن بافت مدنظر با استفاده از محلول فرمالین ۱۰ درصد انجام شد و نمونه‌ها برای رنگ‌آمیزی نیسل آماده شدند؛ به این ترتیب که در ابتدا مرحلهٔ آب‌گیری بافت‌ها با مجموعه‌ای از الکل‌ها صورت گرفت. سپس نمونه‌های مدنظر با استفاده از پارافین مذاب قالب‌گیری شدند. برش‌گیری از ناحیهٔ هیپوکمپ مطابق با اطلس پاکسیسنوس و واتسون انجام شد و برش‌هایی با ضخامت پنج میکرون توسط میکروتوم به‌دست آمد. از هر حیوان هشت مقطع بافتی تهیه شد که روی لام حاوی آلبومین قرار گرفتند و توسط محلول رنگ کریزل رنگ‌آمیزی شد. درنهایت تصویربرداری میکروسکوپی با

1. Radio Immune Precipitation Assay Buffer
2. Mouse Anti-BDNF Antibody (ab203573)
3. Mouse IgG Kappa Binding Protein conjugated to Horseradish Peroxidase (sc-516102)
4. Rabbit Anti-GAPDH antibody [EPR16884] - Loading Control (ab181603)
5. Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP) (ab205718)
6. Image J

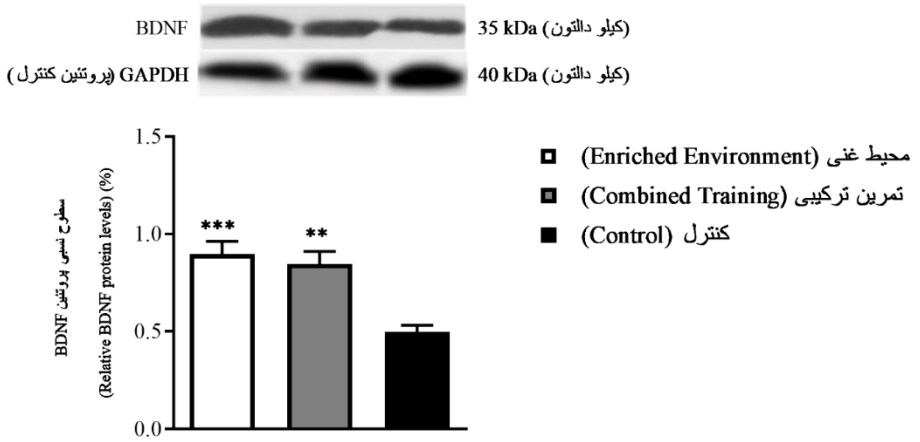
تهیهٔ سه عکس از هر مقطع بافتی انجام شد و نواحی DG و CA1 هیپوکمپ برای شمارش سلولی انتخاب شدند. به‌منظور شمارش سلول‌ها در این نواحی از نرم‌افزار ایمیجی استفاده شد. سلول‌های نکروتیک و سیاه از شمارش خارج شدند و تعداد سلول‌های زنده در مساحت حدود ۶۰۰۰ میکرومتر محاسبه شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس.[1] نسخهٔ ۱۹ تجزیه و تحلیل شدند؛ براین‌اساس، ابتدا توزیع طبیعی داده‌ها بر اساس آزمون کولموگروف- اسمیرنوف [2] تأیید شد. سپس از آزمون آنوای یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی[3] برای بررسی اختلاف معناداری بین سه گروه استفاده شد. سطح معناداری نیز $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

در این پژوهش اصول اخلاقی مطابق با قوانین حمایت و نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی، مصوب در کمیتهٔ ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی و با شناسهٔ اخلاق IR.SBU.REC.1398.007 رعایت شد. حیوانات مطابق با نیاز پژوهش استفاده شدند و از به‌کارگیری حیوانات بیشتر و خارج از نیاز پژوهش اجتناب شد. برای جلوگیری از اعمال فشار و آزار حیوانات، هنگام تمرین از شوک الکتریکی استفاده نشد و از شوکر بادی برای تحریک حیوانات به دویدن استفاده شد. همچنین هنگام تمرین، نکات ایمنی و بهداشتی دربارهٔ حیوانات رعایت شد تا کمترین آسیب در حین تمرین و نگهداری به حیوانات وارد شود.

نتایج

نتایج آزمایش وسترن بلات (شکل شمارهٔ سه، الف) نشان داد نسبت چگالی باند BDNF به GAPDH درگروه‌های کنترل، بازی در محیط غنی‌شده و تمرین ترکیبی به‌ترتیب برابر با ۰/۰۳ ± ۰/۴۹، ۰/۰۶ ± ۰/۸۹ و ۰/۰۶ ± ۰/۸۴ بود. با استفاده از آزمون آنوای یک‌طرفه تفاوت معنادار در میزان BDNF بین گروه‌ها یافت شد ($F(2, 15) = 14/82, P = 0.0003$). همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد پس از سه هفته تمرین ترکیبی و بازی در محیط غنی‌شده، سطوح BDNF به‌طور معناداری در گروه تمرین ترکیبی ($P = 0.0015$) و بازی در محیط غنی‌شده ($P = 0.0004$) افزایش داشت و در گروه بازی در محیط غنی‌شده افزایش بیشتری را نشان داد (شکل شمارهٔ سه، ب).

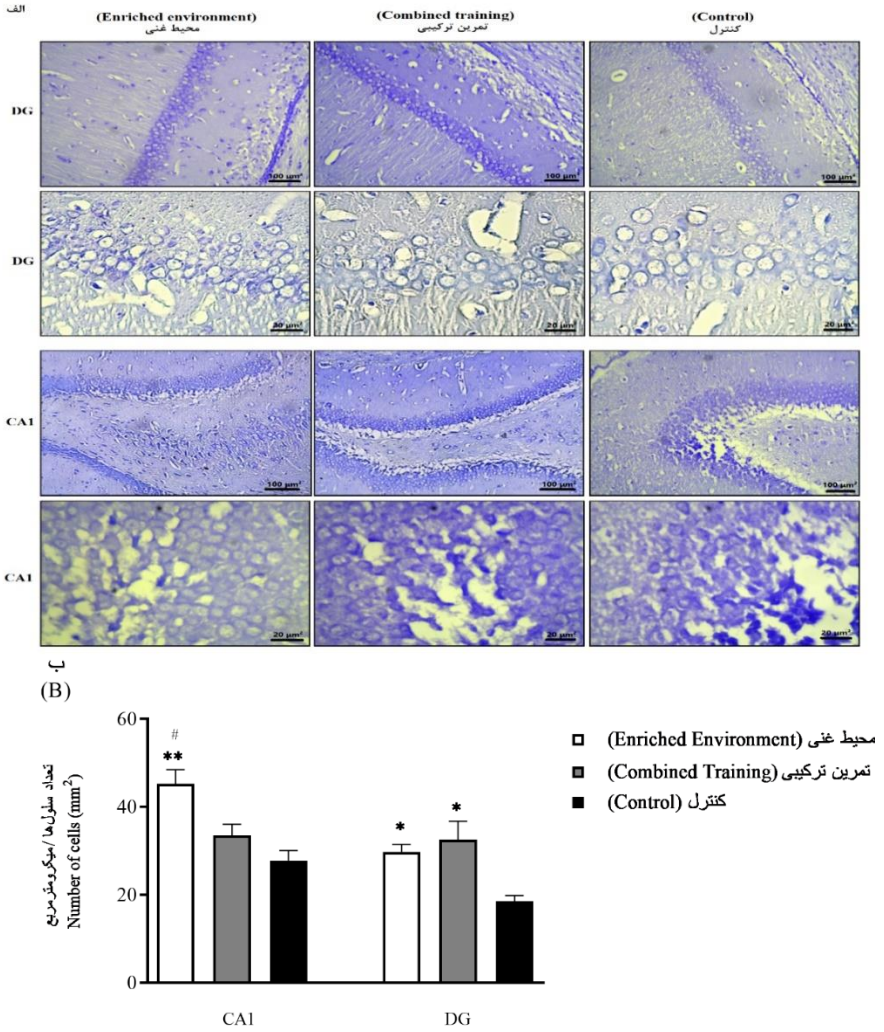
1. SPSS
2. Kolmogorov–Smirnov test
3. Tukey post-hoc test



شکل ۳- تاثیر بازی در محیط غنی شده و تمرین ترکیبی دوره پیش از بلوغ بر سطوح BDNF
(یک باند از هر گروه نشان داده شده است)
****،***: تفاوت معنادار با گروه کنترل ($P < 0.01$,$P < 0.001$)**

Figure 3- Effect of play in an enriched environment and combined training in the pre-pubertal period on BDNF levels. (One replicate of the western blot is shown for each condition) **P < 0.01, *** P < 0.001 vs. control group.

از سوی دیگر، ارزیابی مقاطع بافتی (شکل شمارهٔ چهار، الف) نشان داد تعداد سلول‌ها در ناحیهٔ DG هیپوکمپ به‌طور معناداری بین‌گروه‌ها متفاوت بود ($F (2, 9) = 7.157, P=0.0138$)؛ به‌طوری‌که تعداد سلول‌ها در این ناحیه در هر دو گروه تمرین ترکیبی ($P = 0.0150$) و بازی در محیط غنی‌شده ($P = 0.0443$) در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت. به‌علاوه، شمارش سلول‌ها در ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ تفاوت معناداری را بین گروه‌ها نشان داد ($F (2, 9) = 10.59, P = 0.0043$) نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تعداد سلول‌های ناحیهٔ CA1 در گروه بازی در محیط غنی‌شده در مقایسه با گروه‌های تمرین ($P = 0.0344$) و کنترل ($P = 0.0037$) به‌طور معناداری بیشتر بود. همچنین تفاوت معناداری در گروه تمرین ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل یافت نشد ($P = 0.3431$) (شکل شمارهٔ چهار، ب).



شکل ۴- تأثیر بازی در محیط غنی‌شده و تمرین ترکیبی در دورهٔ پیش از بلوغ بر تعداد سلول‌ها. الف- تصاویر مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی‌شده با روش نیسل و ب- ارزیابی کمّی تعداد سلول‌ها در نواحی DG و CA1 هیپوکمپ

***، **: تفاوت معنادار با گروه کنترل ($P < 0.05, P < 0.001$)**

 # : تفاوت معنادار با گروه تمرین ($P < 0.05$)

Figure 4- Effect of play in an enriched environment and combined training in the pre-pubertal period on the cell numbers of hippocampus. A- Representative pictures obtained by Nissl staining. B- Quantitative evaluation on the number of cells in DG and CA1 regions of hippocampus.

*** $P < 0.05$ ** $P < 0.001$, vs. control group. # $P < 0.05$ vs. Combined training group**

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد سه هفته تمرین ترکیبی و بازی در محیط غنی‌شده در دورهٔ پیش از بلوغ به افزایش معنادار سطوح BDNF هیپوکمپ در موش‌های صحرایی بزرگسال منجر شد. همچنین تعداد سلول‌ها در نواحی DG و CA1 هیپوکمپ به‌طور معناداری بیشتر بود. در این باره شماری از مطالعات مقطعی در دورهٔ پیش از بلوغ و نوجوانی انجام شده است. افزایش عوامل رشد عصبی ازجمله BDNF، نوروژنز، افزایش تعداد سلول‌های عصبی در سراسر هیپوکمپ پس از دویدن‌های اجباری روی نوارگردان و دویدن داوطلبانه روی چرخ‌گردان در موش‌های صحرایی نشان داده شده است (۲۱، ۷، ۶). مطالعاتی اندک دربارهٔ تأثیر محیط‌های غنی در دورهٔ پیش از بلوغ با رویکرد بالینی انجام شده‌اند (۲۲-۲۴)؛ بااین‌حال قرارگیری جوندگان درمعرض محیط‌های غنی مختلف با افزایش سطوح BDNF و بهبود نوروژنز در موش‌های بزرگسال همراه بوده است (۲۶، ۲۵). در پژوهش‌های پیشین پیشنهاد شده است که تأثیرات مفید ناشی از فعالیت‌های ورزشی و محیط‌های غنی بر ساختار و عملکرد مغز احتمالاً تا حد زیادی ناشی از افزایش میزان BDNF هیپوکمپ است (۲). همسو با این مطالعات، در این پژوهش مشاهده شد که میزان BDNF و تعداد سلول‌ها در نواحی DG و CA1 هیپوکمپ موش‌های صحرایی بزرگسال پس از تمرین ترکیبی و بازی در محیط غنی‌شده در دورهٔ پیش از بلوغ افزایش داشت. طبق دانش ما، مطالعهٔ طولی دربارهٔ تأثیر تمرینات ورزشی بر عوامل نوروتروفیک و تغییرات سلولی انجام نشده است، اما یافته‌هایی نشان می‌دهند که فواید جسمانی فعالیت ورزشی در دورهٔ کودکی به دوره‌های بعدی منتقل می‌شود (۱۲-۱۰).

از سویی شواهد جدید انسانی نشان می‌دهند که فعالیت بدنی اوایل زندگی ممکن است عملکرد شناختی را در چندین دههٔ بعد بهبود بخشد (۲۸، ۲۷). همچنین به‌تازگی چندین مطالعه با مدل‌های حیوانی، اثرات پایدار تجربهٔ عامل استرس‌زا در پیش از دورهٔ بلوغ را بر واکنش‌پذیری استرس در دورهٔ بزرگسالی نشان داده‌اند. این مطالعات از این فرضیه حمایت کرده‌اند که استرس تجربه‌شده در اوایل یا پیش از دورهٔ بلوغ به افزایش اضطراب و کاهش عملکرد شناختی در دورهٔ بزرگسالی منجر می‌شود (۱۳). درمقابل، انجام‌دادن تمرینات ورزشی در دورهٔ پیش از بلوغ با افزایش عملکردهای شناختی در دوره‌های بعدی زندگی مرتبط است (۶). در این زمینه BDNF به‌عنوان یکی از سازوکارهای مهم در بهبود عملکردهای شناختی معرفی شده است. از سویی نشان داده شده است که بیان گیرندهٔ BDNF به نام تیروزین کیناز بی[1] (TrKB) در طول عمر کاهش می‌یابد؛ ازاین‌رو پیشنهاد شده است که سطوح افزایش‌یافتهٔ این عامل رشدی در طول دورهٔ کودکی و

1. Tyrosine Receptor Kinase B

نوجوانی ممکن است تأثیر بیشتری بر شکل‌پذیری عصبی در مقایسه با بزرگسالی داشته باشد (۲۹). با درنظرگرفتن این یافته‌ها این احتمال وجود دارد که سطوح افزایش‌یافتهٔ BDNF ناشی از تمرین ورزشی و بازی در محیط غنی‌شده در دورهٔ پیش از بلوغ با اثرات قوی و ماندگاری در ساختار هیپوکمپ همراه باشد.

درحالی‌که اثرات تمرین هوازی به‌طور قوی با BDNF مرتبط است و جنبه‌های مختلفی از ساختار هیپوکمپ را بهبود بخشیده است، تمرین مقاومتی اثرات برجسته‌تری را بر عامل رشد شبه‌انسولینی-یک (IGF-1)[1] مرکزی نشان داده است (۳۰). طبق دانش ما تأثیر تمرینات ترکیبی بر مغز در دورهٔ پیش از بلوغ مشخص نیست، اما نتایج پژوهشی فراتحلیل نشان داده است که ترکیبی از تمرین هوازی و مقاومتی ممکن است به ویژه در بهبود شناختی مؤثر باشد (۳۱)؛ ازاین‌رو تمرین ترکیبی به‌کاررفته در مطالعهٔ حاضر احتمالاً نقش مهمی در افزایش معنادار پروتئین BDNF و تغییرات سلولی بعدی داشته است. ویژگی این رویکرد تمرینی، بهبود عملکرد هوازی در کنار افزایش آمادگی اسکلتی-عضلانی است. رفتار حرکتی انسان به میزان بسیاری سازگارپذیر است و می‌تواند در پاسخ به تجربه‌های حرکتی مختلف شامل تمرین مقاومتی و استقامتی تعدیل شود. افزایش نورژنز و آنژیوژنز ناشی از تمرینات هوازی در کنار پیشرفت قدرت ناشی از فعال‌سازی واحدهای حرکتی و میلین‌سازی، بخش مهمی از سازگاری مرتبط با این نوع تمرین را تشکیل می‌دهد و می‌تواند اثرات مضاعفی در مقایسه با انجام‌دادن تمرینات مجزا ایجاد کند. رفتارهای حرکتی کسب‌شده، همچنین در غیاب تمرین مستمر تداوم دارند که نشان می‌دهد تجربهٔ حرکتی به‌نحوی به‌طور مداوم در سیستم عصبی مرکزی رمزگذاری می‌شود. همچنین افزایش تعداد سلول‌ها در ناحیهٔ DG هیپوکمپ به‌طور غیرمستقیم می‌تواند با تکثیر سلول‌ها و افزایش نوروژنز ناشی از تمرین ورزشی مرتبط باشد (۳۲). علاوه‌بر نوع فعالیت ورزشی، تأثیر وابسته به شدت در بیان عوامل رشدی و نوروژنز در مطالعات حیوانی گزارش شده است (۳۳). در مطالعه‌ای روی موش‌های نوجوان، تمرینات با شدت کم تا متوسط که با به‌وسیلهٔ نوارگردان تعیین شد، تأثیر قوی‌تری در مقایسه با تمرین با شدت زیاد در مدت زمان یکسان داشتند (۳۴). شواهد متناقضی در این باره به‌ویژه در آزمودنی‌های مسن وجود دارد، اما به‌نظر می‌رسد استرس ناشی از تمرینات شدید اجباری اثرات منفی بر مغز ایجاد کرده است. در این زمینه مطالعات حیوانی بسیاری نشان داده‌اند که کورتیکواسترون (هورمون استرسی در جوندگان) سطوح BDNF هیپوکمپ را کاهش می‌دهد (۳۵). استرس معتدل در پروتکل تمرین ترکیبی حاضر احتمالاً به اثرات مثبت مشاهده‌شده منجر شده است.

1. Insulin-Like Growth Factor-1

از سوی دیگر، محیط غنی ممکن است فضای آزاد چالشی را برای حیوانات فراهم کند تا در فضایی مشابه با زمین بازی مجهز فعالیت کنند (۳۶). در دورهٔ پیش از بلوغ و نوجوانی، موش‌های صحرایی تقریبا یک ساعت از چرخهٔ ۲۴ ساعت شبانه‌روزی را به بازی‌کردن اختصاص می‌دهند. به‌نظر می‌رسد تجربهٔ لذت و سرگرمی حیوانات را به انجام‌دادن رفتارهایی مانند بازی، بیشتر سوق می‌دهد (۳۷). شواهد تجربی درحال‌رشدی وجود دارد که براساس آن‌ها بازی‌کردن در موش‌های صحرایی نقش مهمی در توسعهٔ عصبی ایفا می‌کند. بازی‌کردن بیان BDNF آمیگدال و قشر فرونتال در موش‌های نوجوان را افزایش می‌دهد (۳۸). به‌منظور فراهم‌کردن بازی فعال در این مطالعه، حیوانات به‌صورت گروهی در قفس بزرگی قرار گرفتند و از تونل، الاکلنگ، اشیایی با اشکال مختلف شامل توپ و مکعب و همچنین حلقه‌های بالارونده استفاده شد که احتمالاً موجب تحریک فرایندهای توجه، حس کنجکاوی و رفتار اکتشافی حیوانات شده است. همچنین چرخ‌گردان و نردبان برای انجام‌دادن فعالیت‌بدنی داوطلبانه در دسترس بودند. به‌نظر می‌رسد بازی همراه با انجام‌دادن فعالیت‌های مقاومتی (بالارفتن از نردبان) و هوازی (دویدن روی چرخ‌گردان) در افزایش سطوح BDNF و تعداد سلول‌ها در نواحی DG و CA1 در هیپوکمپ مؤثر بوده است. فعالیت بدنی به‌عنوان جزء ضروری محیط‌های غنی‌شده معرفی شده است. در مطالعه‌ای گزارش شد که سطوح BDNF، تکثیر و بقای سلول‌ها تنها در محیط غنی همراه با چرخ‌گردان افزایش داشت و پیشنهاد شده است که فعالیت بدنی عامل مهمی در افزایش BDNF و نوروژنز هیپوکمپ است (۳۹)؛ بااین‌حال نقش تحریکات حسی و شناختی را نمی‌توان نادیده گرفت. جالب توجه است که در پژوهش حاضر تعداد سلول‌ها در ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ در موش‌های گروه غنی در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معناداری بیشتر بود. همچنین موش‌های تمرین‌کرده در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری را در تعداد سلول‌ها در این ناحیه نشان ندادند. این یافته می‌تواند با نقش ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ در تقویت طولانی‌مدت مرتبط باشد که به‌عنوان یکی از سازوکارهای مهم سلولی در تقویت سیناپس‌ها و شکل‌گیری حافظه مطرح شده است. مرحلهٔ مهم به‌منظور تثبیت تغییرات طولانی‌مدت کارایی سیناپسی، سنتز پروتئین‌های جدید از mRNA موجود یا به‌دنبال فعال‌سازی عوامل رونویسی از قبیل CREB[1] است که از طریق مکانیسم‌های درون‌سلولی به‌واسطهٔ پیام‌رسانی کینازها صورت می‌گیرد. این امر تغییرات موفورلوژیک موضعی در ارتباطات سیناپسی ازجمله در سطح انشعابات دندریتی را به‌دنبال دارد که موجب ثبیت تغییرات در کارایی سیناپسی می‌شود. عوامل نوروتروفیک ازجمله BDNF به‌شدت در بیان و ثبیت کارایی سیناپسی درگیر می‌شوند (۱۵). به‌نظر می‌رسد محیط غنی طراحی‌شده در پژوهش حاضر موقعیت‌هایی را برای بازی، فعالیت‌های بدنی و یادگیری حیوانات فراهم کرده است و

1. Ca^{2+} /Calmodulin-Dependent Protein Kinase II

به اثرات مفید و ماندگار بر ساختار هیپوکمپ منجر شده است. درمجموع بیشتر پژوهش‌های انجام‌شده در زمینهٔ ساختار و عملکرد مغز در دورهٔ کودکی و نوجوانی با تمرکز بر فعالیت‌های ورزشی هوازی انجام شده‌اند. اطلاعات محدودی دربارهٔ تأثیر تمرینات مقاومتی موجود است که تاحدودی ممکن است به باور نادرست دربارهٔ ایمن‌نبودن این نوع مداخلات در دورهٔ کودکی مربوط باشد. از سویی مطالعات محدود طولی انجام‌شده در نمونه‌های انسانی و حیوانی، فعالیت بدنی در دوره‌های ابتدایی زندگی را به عنوان رویکرد محافظتی معرفی کرده‌اند و بهبود عملکردهای شناختی را در دوره‌های بعدی زندگی نشان داده‌اند؛ بااین‌حال اطلاعات اندکی دربارهٔ سازوکارهای سلولی-مولکولی اثرگذار وجود دارد. ازآنجاکه انجام‌دادن مطالعات انسانی طولی به‌دلیل فرایند طولانی پژوهش و به‌کاربردن روش‌های تهاجمی ممکن است دشوار و غیرعملی باشد، انجام‌دادن پژوهش‌های حیوانی طولی در این زمینه می‌تواند راه‌گشا باشد. در این زمینه به‌کارگیری مداخلات مؤثر در دورهٔ رشدی اهمیت دارد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، ارزیابی‌های بیشتر سلولی-مولکولی در ارتباط با تمرینات ترکیبی شامل فعالیت‌های ورزشی هوازی و مقاومتی روی ساختارهای مهم مغزی شامل هیپوکمپ پیشنهاد می‌شود. از سوی دیگر، با توجه به اینکه مهم‌ترین انگیزه و دلیل شرکت کودکان در فعالیت‌های بدنی تفریح‌کردن است، انجام‌دادن بازی‌های جسمانی فعال ممکن است مداخلهٔ مؤثری در بهبود ساختار و عملکرد مغز در طول عمر باشد که کمتر به آن توجه شده و ارزیابی شده است.

پیام مقاله

مداخلات تمرینی ازجمله فعالیت‌های ورزشی و بازی‌های جسمانی فعال در سال‌های ابتدایی زندگی، با افزایش عامل رشد عصبی مشتق از مغز احتمالاً به اثرات عمیق و ماندگاری بر ساختار هیپوکمپ منجر خواهند شد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از رسالهٔ مقطع دکتری است و با حمایت مالی صندوق پژوهشگران و فناوران با شمارهٔ طرح ۹۷۰۱۵۲۳۷ انجام شده است.

منابع

1. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. Experimental Physiology. 2009;94(10):1062-9.

2. Voss MW, Nagamatsu LS, Liu-Ambrose T, Kramer AF. Exercise, brain, and cognition across the life span. Journal of Applied Physiology. 2011;111(5):1505-13.
3. García-Hermoso A, Alonso-Martinez AM, Ramírez-Vélez R, Izquierdo M. Effects of exercise intervention on health-related physical fitness and blood pressure in preschool children: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Sports Medicine. 2020;50(1):187-203.
4. Semple BD, Blomgren K, Gimlin K, Ferriero DM, Noble-Haeusslein LJ. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. Progress in Neurobiology. 2013;106:1-16.
5. Ray M. Rich experiences, physical activity create healthy brains: an interview with developmental psychologist william greenough. Perspectives. National Scientific Council on the Developing Child; 2006. Available at: https://www.peacefulplaygrounds.com/ pdf/right-to-recess/physical-activity-create-healthy-brains.pdf [cited 2019 May 2].
6. Gomes da Silva S, Unsain N, Mascó DH, Toscano-Silva M, de Amorim HA, Silva Araújo BH, et al. Early exercise promotes positive hippocampal plasticity and improves spatial memory in the adult life of rats. Hippocampus. 2012;22(2):347-58.
7. Uysal N, Tugyan K, Kayatekin BM, Acikgoz O, Bagriyanik HA, Gonenc S, et al. The effects of regular aerobic exercise in adolescent period on hippocampal neuron density, apoptosis and spatial memory. Neuroscience Letters. 2005;383(3):241-5.
8. Barichello T, Fagundes GD, Generoso JS, Dagostin CS, Simões LR, Vilela MC, et al. Environmental enrichment restores cognitive deficits induced by experimental childhood meningitis. Revista Brasileira de Psiquiatria. 2014;36(4):322-329.
9. Afifi TO, MacMillan HL, Boyle M, Cheung K, Taillieu T, Turner S, et al. Child abuse and physical health in adulthood. Statistics Canada. 2016;27(3):8-10.
10. Boreham C, Twisk J, Neville C, Savage M, Murray L, Gallagher A. Associations between physical fitness and activity patterns during adolescence and cardiovascular risk factors in young adulthood: the Northern Ireland young hearts project. International Journal of Sports Medicine. 2002;23(S1):22-6.
11. Krassas GE, Tzotzas T. Do obese children become obese adults: childhood predictors of adult disease. Pediatric endocrinology Reviews: PER. 2004;1:455-9.
12. Hind K, Burrows M. Weight-bearing exercise and bone mineral accrual in children and adolescents: a review of controlled trials. Bone. 2007;40(1):14-27.
13. Avital A, Richter-Levin G. Exposure to juvenile stress exacerbates the behavioural consequences of exposure to stress in the adult rat. International Journal of Neuropsychopharmacology. 2005;8(2):163-73.
14. Maass A, Düzel S, Brigadski T, Goerke M, Becke A, Sobieray U, et al. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. Neuroimage. 2016;131:142-54.
15. Vecchio LM, Meng Y, Xhima K, Lipsman N, Hamani C, Aubert I. The neuroprotective effects of exercise: maintaining a healthy brain throughout aging. Brain Plasticity. 2018;4(1):17-52.
16. Liu W, Ge T, Leng Y, Pan Z, Fan J, Yang W, et al. The role of neural plasticity in depression: from hippocampus to prefrontal cortex. Neural Plasticity. 2017;2017:6871089.

17. Huang A-M, Jen C, Chen H, Yu L, Kuo Y-M, Chen H-I. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. Journal of Neural Transmission. 2006;113(7):803-11.
18. Chen H-I, Lin L-C, Yu L, Liu Y-F, Kuo Y-M, Huang A-M, et al. Treadmill exercise enhances passive avoidance learning in rats: the role of down-regulated serotonin system in the limbic system. Neurobiology of Learning and Memory. 2008;89(4):489-96.
19. Hornberger Jr TA, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. Canadian Journal of Applied Physiology. 2004;29(1):16-31.
20. Sampedro-Piquero P, Begega A. Environmental enrichment as a positive behavioral intervention across the lifespan. Current Neuropharmacology. 2017;15(4):459-70.
21. Uysal N, Kiray M, Sisman A, Camsari U, Gencoglu C, Baykara B, et al. Effects of voluntary and involuntary exercise on cognitive functions, and VEGF and BDNF levels in adolescent rats. Biotechnic & Histochemistry. 2015;90(1):55-68.
22. Morley-Fletcher S, Rea M, Maccari S, Laviola G. Environmental enrichment during adolescence reverses the effects of prenatal stress on play behaviour and HPA axis reactivity in rats. European Journal of Neuroscience. 2003;18(12):3367-74.
23. Ilin Y, Richter-Levin G. Enriched environment experience overcomes learning deficits and depressive-like behavior induced by juvenile stress. PLoS One. 2009;4(1):e4329.
24. Marashi V, Barnekow A, Ossendorf E, Sachser N. Effects of different forms of environmental enrichment on behavioral, endocrinological, and immunological parameters in male mice. Hormones and Behavior. 2003;43(2):281-92.
25. Grégoire C-A, Bonenfant D, Le Nguyen A, Aumont A, Fernandes KJ. Untangling the influences of voluntary running, environmental complexity, social housing and stress on adult hippocampal neurogenesis. PloS One. 2014;9(1):e86237.
26. Macpherson H, Teo W-P, Schneider LA, Smith AE. A life-long approach to physical activity for brain health. Frontiers in Aging Neuroscience. 2017;9:147.
27. Telama R, Yang X, Viikari J, Välimäki I, Wanne O, Raitakari O. Physical activity from childhood to adulthood: a 21-year tracking study. American Journal of Preventive Medicine. 2005;28(3):267-73.
28. Webster MJ, Weickert CS, Herman MM, Kleinman JE. BDNF mRNA expression during postnatal development, maturation and aging of the human prefrontal cortex. Developmental Brain Research. 2002;139(2):139-50.
29. Cassilhas R, Lee K, Fernandes J, Oliveira M, Tufik S, Meeusen R, et al. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. Neuroscience. 2012;202:309-17.
30. Kramer AF, Colcombe S. Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study—revisited. Perspectives on Psychological Science. 2018;13(2):213-7.
31. Hueston CM, Cryan JF, Nolan YM. Stress and adolescent hippocampal neurogenesis: diet and exercise as cognitive modulators. Translational Psychiatry.2017;4(7);e1081-e1081.

32. Gradari S, Pallé A, McGreevy KR, Fontán-Lozano Á, Trejo JL. Can exercise make you smarter, happier, and have more neurons? A hormetic perspective. Frontiers in Neuroscience. 2016;10:93.
33. Lou S-j, Liu J-y, Chang H, Chen P-j. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. Brain Research. 2008;1210:48-55.
34. Schaaf MJ, de Jong J, de Kloet ER, Vreugdenhil E. Downregulation of BDNF mRNA and protein in the rat hippocampus by corticosterone. Brain Research. 1998;813(1):112-20.
35. Nithianantharajah J, Hannan AJ. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. Nature Reviews Neuroscience. 2006;7(9):697-709.
36. Pellis SM, Pellis VC, Himmler BT. How play makes for a more adaptable brain: a comparative and neural perspective. American Journal of Play. 2014;7(1):73-98.
37. Gordon NS, Burke S, Akil H, Watson SJ, Panksepp J. Socially-induced brain 'fertilization': play promotes brain derived neurotrophic factor transcription in the amygdala and dorsolateral frontal cortex in juvenile rats. Neuroscience Letters. 2003;341(1):17-20.
38. Mustroph ML, Chen S, Desai SC, Cay EB, DeYoung EK, Rhodes JS. Aerobic exercise is the critical variable in an enriched environment that increases hippocampal neurogenesis and water maze learning in male C57BL/6J mice. Neuroscience. 2012;219:62-71.
39. Yu JH, Kim M, Seo JH, Cho S-R. Brain plasticity and neurorestoration by environmental enrichment. Brain & Neurorehabilitation. 2016;2(9):e2.

استناد به مقاله

رستمی سمیرا، حق‌پرست عباس، فیاض‌میلانی رعنا. تأثیر یک دوره تمرین ترکیبی و بازی در محیط غنی‌شده در دورهٔ پیش از بلوغ بر ساختار هیپوکمپ موش‌های صحرایی بزرگسال. فیزیولوژی ورزشی. بهار ۱۴۰۰؛ ۱۳(۴۹): ۲۲۲-۱۹۹. شناسهٔ دیجیتال: 10.22089/spj.2020.9395.2065

Rostami S, HaghParast A, Ayazmilani R. The Effect of Combined Training and Play in an Enriched Environment During Pre-Pubertal Period on Hippocampal Structure of Adult Rats. Sport Physiology. Spring 2021; 13 (49): 199-222. (In Persian). Doi: 10.22089/spj.2020.9395.2065