

مقاله پژوهشی

## تأثیر تمرین هوازی بر تثبیت حافظه فضایی و شاخص پروتئین کرب در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی جوان محروم از خواب

بهروز عبدلی، فاطمه حافظی، منصور احمدی\*

دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

پذیرش: ۹ اسفند ۱۳۹۹

دریافت: ۷ دی ۱۳۹۹

### چکیده

**زمینه و هدف:** هدف از این تحقیق، تأثیر تمرین هوازی بر تثبیت حافظه فضایی و شاخص پروتئین کرب در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی جوان محروم از خواب بود.

**روش‌ها:** ۴۰ موش صحرایی ۴ هفته‌ای سالم نر از نژاد ویستار به روش تصادفی به چهار گروه بدون فعالیت بدنی-خواب طبیعی (کنترل)، بدون فعالیت بدنی-محروم از خواب (بی‌خوابی)، فعالیت بدنی-خواب طبیعی (فعالیت بدنی) و فعالیت بدنی-محروم از خواب (فعالیت بدنی و بی‌خوابی) تقسیم شدند. فعالیت بدنی شامل ۴ هفته تمرین هوازی با استفاده از دویدن روی تردمیل بود. در تمرین هوازی موش‌ها هفته اول و دوم، به مدت ۵ روز در ۲ بخش ۱۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و هفته سوم در ۳ بخش ۱۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه و در هفته چهارم در ۴ بخش ۱۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه روی تردمیل با شیب صفر درجه می‌دویدند. پس از پایان پروتکل تمرین هوازی، مرحله اکتساب حافظه در ماز آبی موریس انجام شد. سپس، جهت القای بی‌خوابی حیوانات به مدت ۲۴ ساعت در داخل سکوی چندگانه اصلاح شده قرار گرفتند. آزمون تثبیت حافظه فضایی، پس از ۲۴ ساعت بی‌خوابی انجام شد. برای اندازه‌گیری شاخص کرب در هیپوکامپ از تکنیک وسترن بلات استفاده شد.

**یافته‌ها:** فعالیت بدنی باعث بهبود اکتساب و تثبیت حافظه فضایی و بی‌خوابی باعث تخریب تثبیت حافظه فضایی در موش‌ها شد ( $p < 0.05$ ). فعالیت بدنی باعث پیشگیری از تخریب تثبیت حافظه فضایی ناشی از کم‌خوابی شد. همچنین، یافته‌ها نشان داد که فعالیت بدنی باعث افزایش بیان پروتئین کرب شد اما بی‌خوابی تأثیر معنی‌داری بر میزان بیان پروتئین کرب نداشت. با وجود این، تأثیر فعالیت بدنی بر میزان بیان پروتئین کرب در موش‌های دارای بی‌خوابی معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین هوازی بر روی تردمیل قادر به پیشگیری از اثرات مخرب بی‌خوابی بر تثبیت حافظه فضایی موش‌های صحرایی می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تردمیل، خواب، ورزش، یادگیری

### مقدمه

اختلالات خواب هیپوکامپ است. هیپوکامپ در تثبیت اطلاعات از حافظه کوتاه‌مدت به حافظه بلندمدت ضروری است. برخی گزارشات نشان داده‌اند که چرخه خواب-بیداری، بیان برخی ژن‌ها که در شکل‌پذیری سیناپس و حافظه نقش دارند مانند فاکتورهای نروتروفیک مشتق از مغز<sup>۱</sup>، سیناپس‌ها، کلسیم کالمودولین کیناز و کرب را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۴]. کرب

خواب مکانیسم فیزیولوژیک بدن در بازیابی توان ازدست‌رفته و خستگی ناشی از فعالیت‌های مغز و بدن در طول زندگی روزمره و یک معیار مهم در حفظ سلامتی جسمی و روانی انسان است [۱]. تداوم خواب و هم‌چنین مقدار کافی آن برای تحکیم حافظه مهم است [۲]. به خوبی ثابت شده است که محرومیت از خواب اثرات روانشناختی منفی دارد و عملکرد شناختی را تخریب می‌کند [۳]. یکی از مناطق مغز حساس به

<sup>1</sup> Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)

نگهداری شدند. شروع ساعت تاریکی موش‌ها از ساعت ۱۸ بود. تمام موش‌ها به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها زیر نظر کمیته اخلاقی حیوانات دانشگاه شهید بهشتی با کد (SBU.ICBS 1013/95) انجام شد. آزمودنی‌ها پس از یک هفته آشنایی با آزمایشگر و محیط آزمایشگاه، به روش تصادفی به چهار گروه بدون فعالیت بدنی- خواب طبیعی (کنترل)، بدون فعالیت بدنی-محروم از خواب (بی‌خوابی)، فعالیت بدنی-خواب طبیعی (فعالیت بدنی) و فعالیت بدنی-محروم از خواب (فعالیت بدنی و بی‌خوابی) تقسیم شدند.

### پروتکل فعالیت هوازی

برای اجرای پروتکل فعالیت بدنی از تردمیل مخصوص موش صحرایی ساخت شرکت دانش‌ساز ایران استفاده شد. دوره سازگاری با فعالیت، یک هفته، هر روز به مدت ۵ دقیقه دویدن بر روی تردمیل با سرعت ۵ تا ۷ متر بر دقیقه بود. قبل از شروع پروتکل، موش‌ها ۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۷ متر بر دقیقه برای گرم کردن می‌دویدند و در انتهای پروتکل ۵ دقیقه با همان سرعت سرد می‌کردند. پروتکل به این صورت بود که موش‌های گروه فعالیت بدنی و گروه فعالیت بدنی و بی‌خوابی، به مدت ۴ هفته فعالیت بدنی را انجام می‌دادند. فعالیت بدنی به این صورت بود که موش‌ها هفته اول و دوم، به مدت ۵ روز در ۲ ست ۱۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و هفته سوم ۳ ست ۱۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه و هفته چهارم ۴ ست ۱۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه روی تردمیل می‌دویدند [۱۰]. موش‌ها بین هر ست هم ۵ دقیقه استراحت می‌کردند و در زمان استراحت به آب دسترسی داشتند.

### پروتکل محرومیت از خواب

برای اعمال بی‌خوابی، از دستگاه سکوی چندگانه<sup>۲</sup> استفاده شد [۱۱]. در طول هفته آخر فعالیت، موش‌های گروه‌های بی‌خوابی برای سازگاری با دستگاه بی‌خوابی، به مدت ۳ روز، هر روز به مدت ۶۰ دقیقه در دستگاه قرار داده شدند. این دستگاه شامل یک مخزن آب (۱۲۳ × ۴۴ × ۴۴ سانتی‌متر)، دارای سکوهایی دایره‌ای با قطر ۶/۵ سانتی‌متر است که حدود ۲ سانتی‌متر از این سکوها بیرون از سطح آب قرار دارد. تعداد

یک فاکتور رونویسی است که واسطه بسیاری از عملکردهای آدنوزین مونوفسفات حلقوی در بیان ژنی است که نقش مهمی در بقاء ذخیره‌سازی حافظه و شکل‌پذیری سیناپسی دارد [۵]. در مقابل، شواهد فراوانی مبنی بر تاثیر مثبت فعالیت بدنی منظم در حفظ سلامت مغز وجود دارد. در این راستا مشخص شده است که تحت تاثیر فعالیت بدنی منظم تعداد نورون‌های مغزی افزایش می‌یابد [۶]. تحقیقات زیادی تاثیر فعالیت بدنی را در بهبود بسیاری از جنبه‌های عملکردی مغز نشان داده‌اند [۴]. هم‌چنین در مطالعات الکتروفیزیولوژیک مشخص شده است که حرکات بدنی مانند دویدن و قدم‌زدن، فعالیت الکتریکی هیپوکامپ را افزایش می‌دهد که علت آن را تغییر فعالیت نورونی و نوروترانسمیتری می‌دانند [۷]. با افزایش فعالیت بدنی عملکرد شناختی نیز بهبود می‌یابد، به طوری که فعالیت بدنی موجب بهبود یادگیری و حافظه در سطح سلولی و مولکولی می‌شود. مکانیسم اساسی که از طریق آن فعالیت بدنی می‌تواند حافظه را افزایش دهد شامل افزایش نوروترنژن هیپوکامپ، اندازه هیپوکامپ و سطوح فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز است که ناشی از شکل‌پذیری سیناپسی بوده و نیازمند دخالت بی‌شمار مولکول‌های دخیل در نگه‌داری و تنظیم عملکرد مغز می‌باشد [۴]. مشغله‌های زندگی امروزی مردم به گونه‌ای است که با خواب آن‌ها تداخل بسیار زیادی دارد. به‌طور کلی، در انسان‌ها محرومیت از خواب می‌تواند منجر به اضطراب، اختلالات تشدیدکننده اضطراب و اختلال عملکرد شناختی شود [۸] ولی در مقابل، تحقیقات نشان داده است که فعالیت بدنی کوتاه‌مدت در موش‌های صحرایی جوان از طریق عوامل نوروتروفیک و تغییر شکل‌پذیری در مغز، باعث افزایش حافظه و یادگیری می‌شود [۹]. با توجه به اثرات متناقض بی‌خوابی و فعالیت بدنی بر یادگیری و حافظه، هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر فعالیت هوازی بر تثبیت حافظه فضایی و شاخص پروتئین کرب در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی جوان محروم از خواب بود.

### مواد و روش‌ها

#### حیوانات

تعداد ۴۰ موش صحرایی چهارهفته‌ای نر از نژاد ویستار از دانشگاه شهید بهشتی ایران تهیه شد. موش‌ها در محیطی با میانگین دمای  $1 \pm 24$  درجه سانتی‌گراد و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در قفس‌های ۵ تایی مخصوص

<sup>2</sup> Multiple platform device

مقدار مساوی پروتئین کل هر نمونه برای الکتروفورز، استخراج شد. برای تعیین کمیت بیان سطح کرب در نمونه‌ها از روش وسترن بلات استفاده شد. ۵۰ میکروگرم پروتئین کل در ژل SDS-PAGE ۱۲٪ الکتروفورز شد. سپس به غشاء پلی دی فلئوراید پلی وینیلیدین منتقل شد و با آنتی بادی‌های مونوکلونال اولیه موش (بیوتکنولوژی سانتاکروز، آمریکا) و بتا اکتین (بیوتکنولوژی سانتاکروز، آمریکا) به عنوان کنترل داخلی کاوش شد. کمی سازی نتایج با اسکن چگالی فیلم‌ها با استفاده از نرم افزار Image J انجام شد. سطح نسبی پروتئین کرب به عنوان نسبت تراکم لکه کرب به تراکم لکه بتا اکتین بیان شد [۱۲].

### روش آماری

برای آنالیز داده‌های مربوط به اکتساب در ماز آبی موریس، از آزمون آنالیز واریانس مرکب (۲×۳) استفاده شد که عدد ۲ مربوط به فعالیت و عدم فعالیت و عدد ۳ مربوط به تعداد بلوک‌های اکتساب است. به علاوه، برای آنالیز داده‌های مربوط به کاوش در ماز آبی موریس، با توجه به معنی‌داری متغیر سرعت بین گروه‌ها ( $F_{3,36} = 7/34$ ,  $p = 0/001$ )، از آنالیز کوواریانس دو عاملی (۲ × ۲) با کنترل اثر سرعت و شاخص نوروبیولوژیکی کرب از آنالیز واریانس دو عاملی (۲ × ۲) و در صورت معنی‌داری تعامل از آزمون t مستقل استفاده شد. از آزمون تعقیبی بونفرونی برای مقایسه‌های درون گروهی در بلوک‌های اکتساب استفاده شد.

### یافته‌ها

#### شاخص رفتاری

اکتساب مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب (۲ × ۳) نشان داد که در مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان، اثر اصلی بلوک معنی‌دار بود ( $F_{2,76} = 37/93$ ,  $p = 0/001$ ). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که در هر دو گروه، مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان در طی بلوک‌های اکتساب کاهش معنی‌داری داشته است ( $p < 0/05$ ). همچنین، اثر اصلی فعالیت‌بدنی معنی‌دار بود ( $F_{1,38} = 5/49$ ,  $p = 0/024$ ).  $I^2 = 0/126$  بدین صورت که مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان در موش‌های دارای فعالیت بدنی به‌طور معنی‌داری کمتر از موش‌های بدون فعالیت بدنی بود (نمودار ۱).

سکوها بیشتر از تعداد موش‌ها بوده و موش‌ها آزادانه می‌توانند در اطراف حرکت کنند. این روش متکی به تون عضلانی است و زمانی که حیوانات به مرحله خواب خود می‌رسند، تون عضلاتشان را از دست می‌دهند و با آب تماس پیدا می‌کنند و بیدار می‌شوند. در طول دوره محرومیت از خواب، آب و غذای کافی در دسترس موش‌ها قرار گرفت. با توجه به اینکه تثبیت حافظه ۲۴ ساعت بعد انجام می‌شود و هدف تاثیر بی‌خوابی پس از اکتساب بر تثبیت حافظه بود، موش‌ها در این فاصله بی‌خوابی را تحمل کردند. زمان بی‌خوابی ۲۴ ساعت بود که از ساعت ۱۸ شروع شد و بلافاصله بعد از مرحله اکتساب انجام شد. بعد از ۲۴ ساعت بی‌خوابی، تثبیت حافظه ارزیابی می‌شد.

### آزمون رفتاری

برای ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی موش‌ها از ماز آبی موریس استفاده شد. همه گروه‌ها، پس از دوره خواب، از ساعت ۱۸ با شروع دوره تاریکی در معرض تمرین ماز آبی موریس قرار گرفتند. هر موش به مدت ۱ روز (۳ بلوک؛ هر بلوک ۴ کوشش؛ فاصله بین کوششی ۲۰ ثانیه؛ فاصله بین بلوکی ۵ دقیقه) مورد آموزش قرار گرفتند (مرحله اکتساب). برای حذف اثرات کوتاه‌مدت فعالیت، موش‌های گروه فعالیت، ۲۴ ساعت استراحت کردند، بعد اکتساب انجام شد. در بلوک‌های اکتساب، فاکتورهای مسافت طی شده<sup>۳</sup> و مدت زمان تاخیر در یافتن سکوی پنهان<sup>۴</sup> و سرعت شنا کردن<sup>۵</sup> اندازه‌گیری شد. ۲۴ ساعت پس از اکتساب، آزمون کاوش یا حافظه انجام شد که شامل یک کوشش ۶۰ ثانیه‌ای شنا کردن آزاد بود. زمان ماندن در ربع هدف، معیار یادگیری در نظر گرفته شد. همچنین آزمون سکوی آشکار به منظور بررسی توانایی‌های حسی-حرکتی و انگیزشی و بینایی موش‌ها برای تکمیل تکلیف اجرا شد.

### آنالیز فاکتور نوروبیولوژیکی کرب

بعد از آزمون تثبیت حافظه، حیوانات به وسیله دی‌اتیل‌اتر بیهوش شدند. پس از قطع گردن به وسیله گیوتین، بلافاصله هیپوکامپ از جمجمه خارج شده و در نیتروژن مایع منجمد شد و سپس به منظور اندازه‌گیری شاخص نوروبیولوژیکی، در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت پروتئین هموزن بافت با استفاده از روش بردفورد برای اطمینان از بارگذاری

<sup>3</sup> Distance moved

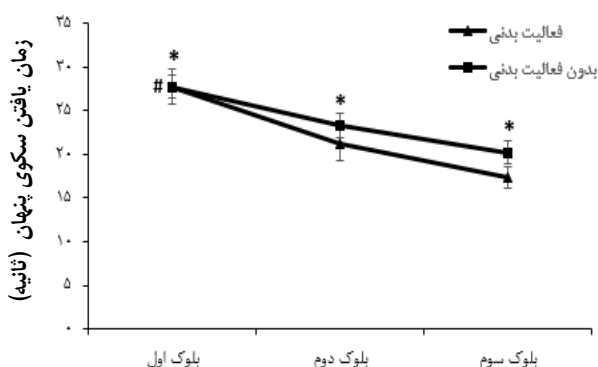
<sup>4</sup> Latency to find hidden platform

<sup>5</sup> Swimming speed

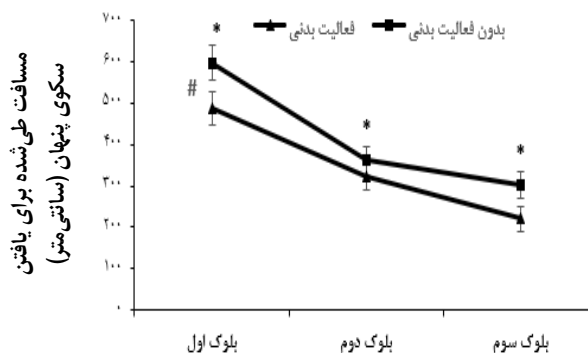
هدف در موش‌های دارای خواب طبیعی به‌طور معنی‌داری بیشتر از موش‌های دارای بی‌خوابی بود. همچنین، اثر اصلی فعالیت‌بدنی معنی‌دار بود ( $F_{4,35} = 29/365$ ,  $p = 0/001$ ,  $\eta^2 = 0/456$ ) و مدت زمان ماندن در ربع دایره هدف در موش‌های دارای فعالیت‌بدنی به‌طور معنی‌داری بیشتر از موش‌های بدون فعالیت بود (نمودار ۳).

### فاکتور نورویبولژیکی کرب

بر اساس نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس دو عاملی (۲ × ۲)، با وجود معنی‌داری اثر اصلی فعالیت‌بدنی ( $F_{1,35} = 53/00$ ,  $p = 0/001$ ,  $\eta^2 = 0/73$ ) و بی‌خوابی ( $F_{1,35} = 13/24$ ,  $p = 0/002$ ,  $\eta^2 = 0/40$ )، به دلیل معنی‌داری تعامل بین فعالیت‌بدنی و بی‌خوابی ( $F_{1,35} = 6/73$ ,  $p = 0/017$ ,  $F_{1,35} = 0/25$ ، از آزمون t مستقل برای مقایسه‌های دو به دو با تعدیل آلفا ( $\alpha = 0/013$ -تعدیل شده) استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که هم در موش‌های دارای خواب طبیعی ( $t_{1,35} = 10/23$ ،  $p = 0/001$ ) و هم موش‌های دارای بی‌خوابی ( $t_{1,35} = 3/46$ ،  $p = 0/006$ )، میزان بیان پروتئین کرب در هیپوکامپ موش‌های دارای فعالیت‌بدنی به‌طور معنی‌داری بیشتر از موش‌های بدون فعالیت‌بدنی بود. به علاوه، در موش‌های دارای فعالیت‌بدنی، میزان بیان پروتئین کرب در هیپوکامپ موش‌های دارای خواب طبیعی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های دارای بی‌خوابی بود ( $t_{1,35} = 4/03$ ،  $p = 0/002$ )، اما در موش‌های بدون فعالیت‌بدنی، تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های دارای خواب طبیعی و بی‌خوابی مشاهده نشد ( $t_{1,35} = 1/76$ ،  $p = 0/11$ ) (نمودار ۴).



**نمودار ۲-** میانگین و خطای معیار زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان در ماز آبی موریس. # تفاوت معنی‌دار زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان در گروه‌ها با  $p < 0/05$ : \* تفاوت معنی‌داری بین فعالیت‌بدنی و عدم فعالیت‌بدنی در تمام بلوک‌ها با  $p < 0/05$ .



**نمودار ۱-** میانگین و خطای معیار مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان در ماز آبی موریس. # تفاوت معنی‌دار مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان در گروه‌ها با  $p < 0/05$ : \* تفاوت معنی‌داری بین فعالیت‌بدنی و عدم فعالیت‌بدنی در تمام بلوک‌ها با  $p < 0/05$ .

### زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان

نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب ( $2 \times 3$ ) نشان داد که در زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان، اثر اصلی بلوک معنی‌دار بود ( $F_{2,76} = 29/67$ ,  $p = 0/001$ ,  $\eta^2 = 0/44$ ). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که در تمام گروه‌ها زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان در طی بلوک‌های اکتساب به‌طور معناداری کاهش پیدا کرد ( $p < 0/05$ ). همچنین، اثر اصلی فعالیت‌بدنی معنی‌دار بود ( $F_{1,38} = 4/22$ ,  $p = 0/047$ ,  $\eta^2 = 0/100$ )، بدین صورت که زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان در گروه فعالیت‌بدنی به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه بدون فعالیت‌بدنی بود (نمودار ۲).

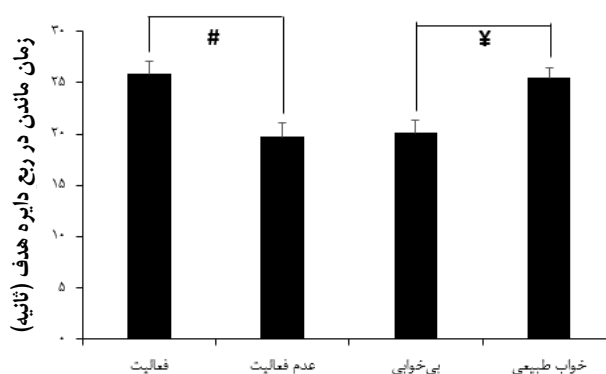
### آزمون کاوش

در آزمون کاوش، نتایج نشان داد که سرعت گروه‌های بی‌خوابی، و بی‌خوابی به همراه فعالیت‌بدنی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه فعالیت‌بدنی بود. این یافته نشان می‌دهد بی‌خوابی باعث اختلال در سیستم حرکتی موش‌ها نشده است اما به دلیل تفاوت بین گروه‌ها در متغیر سرعت و به دلیل رعایت پیش‌فرض همگنی خط رگرسیون، از تحلیل کوواریانس دو عاملی ( $2 \times 2$ ) استفاده شد. نتایج این تحلیل، در ارتباط با زمان ماندن موش صحرائی‌ها در ربع دایره هدف در شرایط برداشته شدن سکو، تعامل معنی‌داری را بین بی‌خوابی و فعالیت‌بدنی نشان نداد ( $F_{4,35} = 0/15$ ,  $p = 0/9$ ,  $\eta^2 = 0/001$ ) اما اثر اصلی بی‌خوابی ( $F_{1,35} = 16/21$ ,  $p = 0/001$ ,  $\eta^2 = 0/317$ ) معنی‌دار بود، بدین صورت که مدت زمان ماندن در ربع دایره

[۱۵]. خدادادی در تحقیق خود به این نتیجه رسید که فعالیت ورزشی می‌تواند کمبودهای شناختی ناشی از کم‌خوابی را خنثی کند [۱۲]. با وجود این، یافته‌های تحقیق‌هایی دیگر که در این زمینه انجام شده‌اند با تحقیق حاضر متناقض هستند. از جمله سعادتی و همکاران عدم تاثیر فعالیت‌بدنی بر حافظه را گزارش کردند. در تحقیق آن‌ها از یادگیری اجتنابی غیرفعال برای ارزیابی حافظه فضایی استفاده شده است که با آزمون مورد استفاده برای ارزیابی حافظه فضایی در تحقیق حاضر (ماز آبی موریس) متفاوت است [۱۶]. در تحقیق آن‌ها شدت فعالیت‌بدنی بصورت یکنواخت بود در حالی که پروتکل تمرینی تحقیق حاضر به‌صورت تدریجی زیاد می‌شد. هم‌چنین، رحمانی و همکاران به این نتیجه رسیدند که یادگیری فضایی در ماز آبی تحت تاثیر فعالیت‌بدنی قرار نمی‌گیرد [۱۷]. احتمالاً تفاوت در شدت فعالیت‌بدنی موجب تفاوت در نتایج شده است.

از دیگر یافته‌های این تحقیق در ارتباط با یادگیری و تثبیت حافظه فضایی این بود که ۴ هفته فعالیت هوازی باعث افزایش بیان پروتئین کرب شد. بررسی اثر ورزش هوازی در موش‌های صحرایی جوان نشان داده است که ورزش، یادگیری فضایی و دانسیته نورونی هیپوکامپ را در ژيروس دنداندار و قسمت‌های دیگر هیپوکامپ بدون تغییر در آپوپتوزیس افزایش می‌دهد و باعث بهبودی حافظه کوتاه‌مدت در موش‌های صحرایی نر می‌شود [۱۸]. نتایج تحقیق واینمن<sup>۱۰</sup> و همکاران نشان داد که یک هفته فعالیت‌بدنی منجر به افزایش سطوح فاکتورهای نوروتروفیک مشتق شده از مغز و کرب در هیپوکامپ شد و پس از آن حافظه فضایی نیز بهبود یافت. چنین استدلال شد که پروتئین کرب نقش عملکردی زیادی در بهبود حافظه و یادگیری از طریق ورزش دارد به‌این‌معنی که ورزش از طریق افزایش بیان پروتئین کرب باعث بهبود حافظه فضایی می‌شود [۱۹]. به طور کلی مکانیسم‌هایی که در طی فعالیت‌بدنی موجب بهبود عملکرد شناختی می‌شوند، شامل نورونز، افزایش سیناپس‌ها و شکل‌پذیری سیناپسی و رشد فاکتورهای عصبی در نقاط مختلف مغزی به ویژه در هیپوکامپ ایفای نقش می‌کنند [۱۸].

از دیگر یافته‌های این تحقیق این بود که بی‌خوابی باعث کاهش عملکرد موش‌ها در ماز آبی موریس شد. همسو با این یافته، اسمیت<sup>۱۱</sup> و همکاران در تحقیق خود به این نتیجه



**نمودار ۳-** میانگین و خطای معیار زمان ماندن در ربع دایره هدف در آزمون ماز آبی موریس. #: تفاوت معنی‌دار بین فعالیت و عدم فعالیت با  $p < 0.05$ ; ¥: تفاوت معنی‌دار بین خواب طبیعی و بی‌خوابی با  $p < 0.05$ .

## بحث

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که فعالیت‌بدنی، اکتساب و تثبیت حافظه فضایی موش‌های صحرایی جوان را به طور معنی‌داری بهبود می‌بخشد. به طوری که مسافت طی شده و مدت زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان در مراحل اکتساب و کاوش در موش‌های دارای ۴ هفته فعالیت منظم بدنی به طور معنی‌داری کمتر از موش‌های بدون فعالیت بدنی بود و بنابراین ۴ هفته فعالیت منظم بدنی موجب بهبود عملکرد شناختی در موش‌ها گردید.

همسو با یافته‌های این تحقیق فان پراگ<sup>۶</sup> و همکاران در تحقیق خود به بررسی اثر فعالیت بدنی بر میزان نورونز هیپوکامپی و حافظه فضایی موش‌های صحرایی پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که موش‌های صحرایی که فعالیت بدنی داشتند، عملکرد بهتری در ماز آبی موریس نشان دادند [۷]. مطالعه هرتینگ<sup>۷</sup> و همکاران در انسان نشان‌دهنده اثرات مفید و درازمدت فعالیت‌بدنی بر حافظه فضایی و تثبیت اطلاعات در حافظه بلندمدت می‌باشد [۱۳]. زیلینسکی<sup>۸</sup> و همکاران در تحقیق خود بر روی موش سوری به این نتیجه رسیدند که فعالیت‌بدنی اثرات مثبتی بر عملکردهای شناختی مانند افزایش یادگیری و حافظه می‌گذارد [۱۴]. هم‌چنین، کاسیاس<sup>۹</sup> و همکاران گزارش کردند که ۸ هفته تمرین مقاومتی و استقامتی، اکتساب و یادداری را در مدل ماز آبی موریس بهبود بخشید

<sup>6</sup> Van Praag

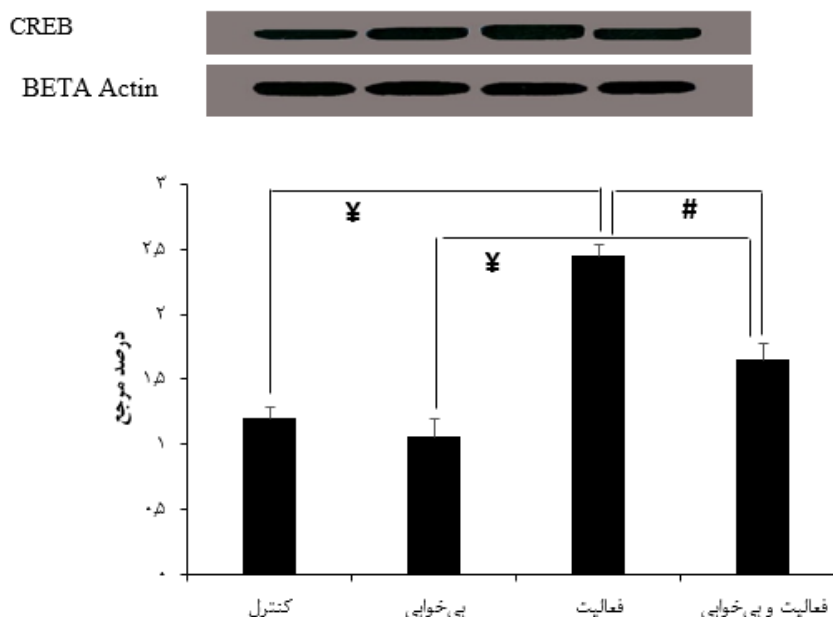
<sup>7</sup> Herting

<sup>8</sup> Zielinski

<sup>9</sup> Cassihas

<sup>10</sup> Vaynman

<sup>11</sup> Smith



**نمودار ۴-** میزان بیان پروتئین کرب در بافت هیپوکامپ. الف) باند پروتئین آزمون و مرجع در وسترن بلات. هر باند بر روی گروه مورد نظر قرار گرفته است. ب) میانگین و خطای معیار بیان پروتئین هم در موش‌های دارای خواب طبیعی و هم موش‌های دارای بی‌خوابی، میزان بیان پروتئین کرب در هیپوکامپ موش‌های دارای فعالیت بدنی به طور معنی‌داری بیشتر از موش‌های بدون فعالیت بدنی بود.  $p < 0.01$ ;  $\#$ :  $p < 0.01$ ;  $\#$ :  $p < 0.01$ .

نوروتروفیک مشتق شده از مغز، سیناپسین I، کرب و کلسیم کالمودولین کیناز را در هیپوکامپ موش‌ها کاهش داد، ولی بیان این ژن‌ها در نئوکورتکس تغییری نکرد [۲۲]. ناکاگاوا<sup>۱۳</sup> و همکاران تاثیر محرومیت از خواب را روی سیگنال‌دهی آدنوزین مونوفسفات حلقوی در هیپوکامپ بررسی کردند. نتایج یافته‌های آن‌ها نشان داد که به واسطه محرومیت از خواب، کرب در مناطق CA1 و شکنج دندانه‌دار هیپوکامپ کاهش یافت [۵]. به نظر می‌رسد تناقض موجود در نتایج یافته‌ها به دلیل تفاوت در پروتکل بی‌خوابی استفاده شده در تحقیق‌ها باشد [۴].

از دیگر یافته‌های این تحقیق این بود که عملکرد موش‌های گروه بی‌خوابی، در مقایسه با گروه فعالیت و بی‌خوابی دچار اختلال شد. این نتایج نشان می‌دهد که فواید ناشی از فعالیت بدنی، ممکن است اثرات منفی بی‌خوابی که در تثبیت حافظه فضایی اختلال ایجاد کرده بود را خنثی کند. همسو با این یافته، در تحقیقی که توسط زاگار<sup>۱۴</sup> و همکاران انجام شد، دریافتند که عملکرد حافظه گروه موش‌های صحرايي کم

رسیدند که حافظه در اعمال مختلف وابسته به هیپوکامپ، از جمله ماز آبی موريس و تکلیف اجتنابی غیرفعال از طریق محرومیت از خواب تخریب می‌شود [۲۰]. هم‌چنین، گریوز<sup>۱۲</sup> و همکارانش دریافتند که به نظر می‌رسد بی‌خوابی به مدت ۵ تا ۸ ساعت بعد از یادگیری، جهت‌گیری فضایی و شناخت محیط فیزیکی را که به عنوان حافظه ضمنی شناخته شده است، در موش‌های صحرايي مختل می‌کند [۲۱].

هم‌چنین، از دیگر یافته‌های این تحقیق این است که در موش‌های بدون فعالیت بدنی، تفاوت آماری معنی‌داری بین میزان بیان پروتئین کرب در هیپوکامپ موش‌های دارای خواب طبیعی و بی‌خوابی وجود نداشت. بدین معنی که بی‌خوابی باعث کاهش بیان پروتئین کرب در موش‌های گروه‌های بی‌خوابی نشد. همسو با یافته‌های این تحقیق، گریوز و همکاران در تحقیق خود در پی محرومیت از خواب بعد از آموزش، هیچ تغییری روی کرب در آمیگدال مشاهده نکردند [۲۱]. یافته‌های تحقیق‌هایی دیگر که در این زمینه انجام شده‌اند با تحقیق حاضر متناقض هستند. در یک مطالعه نشان داده شد که محرومیت ۸ و ۴۸ ساعت خواب، بیان ژنی فاکتورهای

<sup>13</sup> Nakagawa

<sup>14</sup> Zagaar

<sup>12</sup> Graves

## سپاسگزاری

این تحقیق نتیجه پایان نامه کارشناسی ارشد است که با همکاری بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی انستیتو پاستور ایران انجام شده است. از همکاری اساتید و کارکنان محترم این بخش سپاسگزاریم.

## ملاحظات مالی

برای اجرای این پایان نامه از هیچ موسسه‌ای کمک مالی دریافت نشده است.

## تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

## نقش نویسندگان

ب ع: نظارت و راهنمایی اجرای مطالعه؛ ن ا: مشاوره، طراحی پروتکل و آنالیز آماری و تحلیل داده‌ها؛ ف ح: انجام مطالعه.

## فهرست منابع

- [1] Rosekind MR, The epidemiology and occurrence of insomnia. *J Clin Psychiatr* 53 (1992) 4-6.
- [2] Djonlagic I, Saboisky J, Carusona A, Stickgold R, Malhotra A, Increased sleep fragmentation leads to impaired off-line consolidation of motor memories in humans. *PLoS One* 7 (2012) e34106.
- [3] Wilson MA, McNaughton BL, Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265 (1994) 676-679.
- [4] Nikzad S, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Assessment the effects of Metyrapone (as a glucocorticoids synthesis inhibitor) on memory retrieval and reconsolidation in rats. *Pharm Sci* 16 (2010) 139-148.
- [5] Nakagawa S, Kim J-E, Lee R, Malberg JE, Chen J, Steffen C, et al., Regulation of neurogenesis in adult mouse hippocampus by cAMP and the cAMP response element-binding protein. *J Neurosci* 22 (2002) 3673-3682.
- [6] Farmer J, Zhao Xv, Van Praag H, Wodtke K, Gage F, Christie B, Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience* 124 (2004) 71-79.
- [7] Van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH,

تحرك محروم از خواب به شدت دچار اختلال شد در حالی که موش های صحرائی گروه فعالیت بدنی محروم از خواب عملکرد طبیعی داشتند [۲۳]. در تحقیقی که احمدی و همکاران روی بی خوابی و فعالیت بدنی انجام دادند به این نتیجه رسیدند که فعالیت بدنی می تواند کمبودهای شناختی ناشی از کم خوابی را خنثی کند [۱۲]. هم چنین محققان در بررسی تعامل فعالیت بدنی و کم خوابی نشان دادند که ۴ هفته تمرین هوازی، کاهش حافظه بلندمدت ناشی از ۹۶ ساعت محرومیت از خواب را در موش ها کاهش می دهد، با این حال، این رفتار به طور مستقیم با تغییرات در بیان پروتئین های پیش و پس سیناپسی همبستگی نداشت [۲۴].

## نتیجه گیری

همسو با مطالعات انجام شده، نتایج حاصل از تحقیق حاضر موید مزایای فعالیت بدنی بر اکتساب حافظه فضایی و همچنین تاثیر منفی بی خوابی بر حافظه در موش های صحرائی می باشد. این طور به نظر می رسد که فعالیت بدنی بواسطه تغییرات در شکل پذیری سیناپسی و سایر مکانیسم ها مانع از ایجاد عوارض شناختی ناشی از بی خوابی در موش های صحرائی شده است.

Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (1999) 13427-13431.

- [8] Wilson MA, McNaughton BL, Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265 (1994) 676-679.
- [9] Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW, Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 726 (1996) 49-56.
- [10] Zagaar M, Dao A, Levine A, Alhaider I, Alkadhki K, Regular exercise prevents sleep deprivation associated impairment of long-term memory and synaptic plasticity in the CA1 area of the hippocampus. *Sleep* 36 (2013) 751-761.
- [11] Wang L, Song Y, Li F, Liu Y, Ma J, Mao M, Wu F, Wu Y, Li S, Guan B, Liu X, Effects of Wen Dan Tang on insomnia-related anxiety and levels of the brain-gut peptide Ghrelin. *Neural Regen Res* 9 (2014) 205-212.
- [12] [Khodadadi Z, Influence of chronic sleep restriction and aerobic exercise on spatial memory, and associated neurobiological measures in the hippocampus of adult rats [dissertation]. School of Physical Education and Sports Sciences, Shahid Beheshti Univ., 2015.
- [13] Herting MM, Nagel BJ, Aerobic fitness relates to learning on a virtual Morris Water Task and hippocampal volume in adolescents. *Behav Brain Res*

- 233 (2012) 517-525.
- [14] Zielinski MR, Davis JM, Fadel JR, Youngstedt SD, Influence of chronic moderate sleep restriction and exercise training on anxiety, spatial memory, and associated neurobiological measures in mice. *Behav Brain Res* 250 (2013) 74-80.
- [15] Cassilhas RC, Lee KS, Venancio DP, Oliveira MGMD, Tufik S, Mello MTd, Resistance exercise improves hippocampus-dependent memory. *Braz J Med Biol Res* 45 (2012) 1215-1220.
- [16] Saadati H, Babri S, Ahmadiasl N, Mashhadi M, Effects of exercise on memory consolidation and retrieval of passive avoidance learning in young male rats. *Asian J Sports Med* 1 (2010) 137-142.
- [17] Rahmani A, Sheikh M, Hedayat Talab R, Naghdi N, The effect of exercise training on stress-induced changes in learning. *J Arak Med Univ* 16 (2013) 52-64.
- [18] 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. *Neurosci Lett* 383 (2005) 241-245.
- [19] Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F, Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci* 20 (2004) 2580-2590.
- [20] Smith C, Rose GM, Evidence for a paradoxical sleep window for place learning in the Morris water maze. *Physiol Behav* 59 (1996) 93-97.
- [21] Graves LA, Heller EA, Pack AI, Abel T, Sleep deprivation selectively impairs memory consolidation for contextual fear conditioning. *Learn Mem* 10 (2003) 168-176.
- [22] Poulsen D, Standing D, Bullshields K, Spencer K, Micevych P, Babcock A, Overexpression of hippocampal Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II improves spatial memory. *J Neurosci Res* 85 (2007) 735-739.
- [23] Zagaar M, Alhaider I, Dao A, Levine A, Alkarawi A, Alzubaidy M, et al., The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation: behavioral, electrophysiological and molecular evidence. *Neurobiol Dis* 45 (2012) 1153-1162.
- [24] Mello PB, Benetti F, Cammarota M, Izquierdo I, Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 80 (2008) 301-309.



## Research paper

**The effect of aerobic training on consolidation of spatial memory and CREB protein index in the hippocampal tissue of sleep deprived young rats**

Behrouz Abdoli, Fatemeh Hafezi, Nassour Ahmadi\*

*School of Physical Education and Sports Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran*

Received: 25 December 2020

Accepted: 28 January 2021

**Abstract**

**Background and aims:** The aim of the present study was to investigate the effect of aerobic training on consolidation of spatial memory and CREB protein index in the hippocampal tissue of sleep deprived young rats.

**Methods:** Forty Wistar young male rats were randomly assigned to four groups: sedentary/normal sleep control group (Cr), sedentary/sleep deprived (Sd), physical activity/normal sleep (Ph/Ns) and physical activity/ sleep deprived (Ph/Sd). Physical activity was included four weeks aerobic training by running on treadmill. Rats performed aerobic training 5 days/week for 4 weeks by running on a treadmill with a zero-degree slope. In the first and second weeks rats ran for 2 sets of 15 min with speed of 10 m/min. In the third week, 3 sets of 15 min with speed of 15 m/min was performed. In the fourth week, 4 sets of 15 min with speed of 15 m/min was done. After aerobic training, the memory acquisition was assessed by Morris water maze. Then, sleep deprivation was induced in rats of Sd and Ph/Sd groups for 24 h by a multiple platform device. The spatial memory consolidation was tested 24 h after sleep deprivation. Western blot technique was used to measure the CERB protein index in the hippocampus.

**Results:** Aerobic training improved acquisition and consolidation of spatial memory while sleep deprivation destroyed the spatial memory ( $p < 0.05$ ). However, aerobic training prevented the destruction of spatial memory consolidation induced by sleep deprivation. Aerobic training also increased expression of CERB but sleep deprivation had no significant effect on the expression of CERB. However, the effect of aerobic training on the expression of CERB in the sleep deprived rats was significant ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that aerobic training on treadmill is able to prevent the adverse effects of sleep deprivation on the spatial memory consolidation in rats.

**Keywords:** Treadmill, sleep, exercise, learning

**Please cite this article as follows:**

Abdoli B, Hafezi F, Ahmadi N, The effect of aerobic training on consolidation of spatial memory and CREB protein index in the hippocampal tissue of sleep deprived young rats. *Iran J Physiol Pharmacol* 4 (2020) 67-75.

\*Corresponding author: n\_ahmadi@sbu.ac.ir (ORCID: 0000-0002-5161-8949)