



## اثر تمرین ترکیبی هوازی - مقاومتی بر یادگیری احترازی غیرفعال، سطوح BDNF و Ki67

### هیپوکامپ موش‌های صحرایی ویستار با رده سنی مختلف

پیمان حسن‌نژاد ملومه<sup>۱</sup>، علیرضا علمیه<sup>۲\*</sup>، محمدرضا فدایی‌چافی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت‌بدنی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

۲- دانشیار، گروه تربیت‌بدنی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

۳- استادیار، گروه تربیت‌بدنی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۰۷، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۳۰

#### چکیده

**مقدمه:** هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر ۶ هفته تمرین ترکیبی هوازی و مقاومتی بر یادگیری احترازی غیرفعال، سطوح BDNF و Ki67 هیپوکامپ موش‌های صحرایی ویستار با رده‌های سنی مختلف بود.

**مواد و روش‌ها:** ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار در سه رده سنی ۲ هفتگی، ۸ هفتگی و ۲۴ ماهگی (هر رده ۱۰ سر) تهیه و هر رده سنی به دو گروه کنترل و تمرین (هر گروه ۵ سر) تقسیم شدند. در گروه تمرین حیوانات به صورت روز درمیان برنامه تمرینی مقاومتی و هوازی را انجام می‌دادند. میزان اضافه‌بار برای برنامه تمرین مقاومتی براساس وزن بدن حیوانات تعیین شد. برای گروه تمرین هوازی نیز شدت تمرین از ۵۰ درصد حداکثر سرعت در هفته اول به ۸۰ درصد در هفته آخر رسید. در انتهای پژوهش یادگیری احترازی غیرفعال با تست شاتل باکس ارزیابی شد.

**نتایج:** نتایج گروه تمرین ۲۴ ماهگی کاهش معنی‌داری را در تعداد رفت و برگشت به تاریکی و روشنایی نسبت به گروه کنترل ۲۴ ماهگی نشان داد ( $P < 0/05$ ) میزان mRNA BDNF در گروه تمرین ۲ هفتگی هرچند بیشترین سطح را داشت اما در مقایسه با سایر گروه‌های تمرین در سنین مختلف معنی‌دار نبود ( $P < 0/05$ ) تغییرات پروتئینی Ki67 با وسترن بلات نیز نشان داد که گروه‌های تمرین ۲ هفتگی و تمرین ۸ هفتگی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل خود نشان دادند (برای هر دو  $P < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد رت‌های سالمند با توجه به تخریب شدیدتر مولکولی در سلول‌های عصبی مرکزی (کاهش BDNF و Ki67)، در آزمون‌های رفتاری نسبت به سایر سنین موفقیت کمتری داشته باشند که انجام تمرینات ترکیبی به مقدار کمی می‌تواند مؤثر واقع شود.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین ورزشی، هیپوکامپ، BDNF.

\*نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، تلفن: ۰۹۱۱۱۳۵۹۱۲۱، نمابر: ۰۱۳۳۳۴۲۱۸۲۹، Email: elmieh1592@gmail.com

**ارجاع:** حسن‌نژاد ملومه پیمان، علمیه علیرضا، فدایی‌چافی محمدرضا. اثر تمرین ترکیبی هوازی - مقاومتی بر یادگیری احترازی غیرفعال، سطوح BDNF و Ki67 هیپوکامپ موش‌های صحرایی ویستار با رده سنی مختلف. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۰؛ ۱۶(۲): ۱-۲.

## مقدمه

از گذشته تا کنون مطالعات متعدد فواید ورزش و فعالیت بدنی را بر جسم و ذهن مورد ارزیابی قرار داده‌اند (۱ و ۲). مارکوس تولیوس سیسرو در سال ۶۵ قبل از میلاد اظهار داشت که "فقط ورزش است که از روح حمایت و ذهن را سر حال نگه می‌دارد" (۳). در طول دهه‌ی گذشته، تمرکز فرآیندهای بر تأثیر تعدادی از عوامل سبک زندگی، از جمله تعامل فکری، تعامل اجتماعی، تغذیه و فعالیت بدنی، بر نشاط شناختی افراد در سنین مختلف به‌ویژه سالمندی بوده است. در دوران کودکی بیان شده که انجام تمرینات ورزشی به‌صورت منظم عملکرد حافظه را بهبود و توانایی ذهنی کودکان را بالا می‌برد (۴ و ۵). از آنجایی که تمرین ورزشی به‌عنوان غذای مغز نیز شناخته شده است (۶)، لذا انجام منظم تمرین ورزشی در سنین بزرگسالی و سالمندی نیز می‌تواند بیماری‌های مغزی و آسیب‌های حافظه‌ای ناشی از سن را کنترل کند (۷).

براساس مطالعات فعالیت بدنی می‌تواند اثر محافظت عصبی داشته باشد (۸). تمرینات مختلف می‌تواند تأثیرات متنوعی بر مغز و حافظه داشته باشد. نشان داده شده که انجام تمرینات مقاومتی (تناسب اندام) به‌طور گسترده‌ای بر انواع فرآیندهای شناختی تأثیر می‌گذارد، اما بیشترین تأثیرات مثبت این تمرینات برای فرآیندهای کنترل اجرایی بوده است (۹). فرآیندهای کنترل اجرایی شامل مؤلفه‌های شناختی مانند برنامه‌ریزی، تقسیم‌بندی امور، حافظه فعال، فرآیندهای مهارتی و چندوظیفه‌ای است، که با افزایش سن کاهش چشمگیر را نشان می‌دهند (۱۰). انجام تمرینات هوازی نیز باعث افزایش حجم هیپوکامپ و بهبود حافظه در آزمودنی‌های بیمار و سالم می‌شود (۱۱ و ۱۲). وقتی تمرینات هوازی با تمرین قدرتی و انعطاف‌پذیری نیز ترکیب می‌شوند، تأثیرات تمرین بیشتر می‌شود (۱۳). زیرا که بیان شده ترکیب پروتکل‌های درمانی مختلف ممکن است تغییرات متنوع‌تری در مغز ایجاد کند (۱۴).

براساس مطالعات انجام شده در نمونه حیوانی، برنامه‌های تمرینی مختلف، تأثیرات متفاوتی بر سلول‌های عصبی و مسیرهای سیگنالینگ این سلول‌ها دارد. تکثیر نورونی ناشی از ورزش، در شکنج دنداندار حیوانات جوان و پیر گزارش شده است (۱۵ و ۱۶). اگرچه رشد سلول‌های عصبی جدید لزوماً به بهبود شناخت تبدیل نمی‌شود، ون پراگ و همکاران (۱۷) نشان دادند که ورزش در حیوانات مسن می‌تواند باعث افزایش شناخت و تکثیر نورون شود. به‌خوبی ثابت شده است که ورزش سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) را در هیپوکامپ افزایش می‌دهد (۱۸ و ۱۹). مغز نمونه پیر نیز با بیان BDNF در هیپوکامپ، به ورزش پاسخ می‌دهد (۲۰)، اگرچه دوره زمانی و مدت بیان BDNF ممکن است بین حیوانات پیر و جوان متفاوت باشد (۲۱). گارزا و همکاران (۲۲) با استفاده از روش‌های درمانی مختلف گزارش دادند، در حیوانات جوان (۳)

ماهه)، سطح mRNA BDNF با ورزش در مناطق CA3، CA4 و شکنج دندان‌افزایش می‌یابد، در حالی که در حیوانات پیر (۲۲ ماهه)، سطح BDNF mRNA بیشتر در مناطق CA1 و CA2 افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده تغییر احتمالی فیزیولوژی و ویژگی منطقه‌ای بیان BDNF در هیپوکامپ در طول عمر است. Ki67 نیز از جمله فاکتورهایی است که به‌عنوان مارکر نورورژنیز شناسایی شده است (۲۳ و ۲۴). نشان داده شده که Ki-67 یک نشانگر تکثیر سلولی است و سطح سلولی آن به‌طور قابل توجهی در طول رشد سلول و نورورژن افزایش می‌یابد (۲۵ و ۲۶). لذا تغییرات آن در دوران رشد به‌ویژه با تمرین ورزشی می‌تواند قابل توجه باشد که تاکنون مطالعه‌ای نقش آن را با ورزش در سطح مغز (در دوران مختلف سنی) بررسی نکرده است.

برای ترسیم رابطه بین BDNF و کاهش شناختی و عصبی وابسته به سن و همچنین نقش ورزش در تعدیل تغییرات مربوط به سن در BDNF و Ki67، تحقیقات بیشتری لازم است. لذا در مطالعه حاضر، به بررسی تأثیر تمرین ترکیبی هوازی و مقاومتی بر یادگیری احترازی غیرفعال (شاتل باکس)، سطوح BDNF و Ki67 هیپوکامپ موش‌های صحرایی و پستار با رده‌های سنی مختلف پرداخته می‌شود.

## مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر ۳۰ سر رت نر نژاد و پستار از انستیتو پاستور ایران در سه رده سنی تهیه شدند. پس از انتقال رت‌ها به محیط آزمایشگاه حیوانات در شرایط کنترل شده با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر)، دما (۳±۲۲ سانتی‌گراد) و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. تعداد ۵-۳ رت در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر نگهداری شدند. حیوانات همچنین به آب و غذای استاندارد دسترسی آزاد داشتند. تمامی مراحل نگهداری و کشتار رت‌ها براساس ضوابط کمیته اخلاقی حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت و با تأییدیه کد اخلاق IR.IAU.RASHT.REC.1399.024 انجام شد. حیوانات پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه در سه رده سنی (هر رده دو گروه کنترل و تمرین) تقسیم‌بندی شدند که به‌صورت زیر بود:

گروه تمرین ۲ هفتگی: که در سن دو هفتگی فعالیت ورزشی خود را شروع کردند (۵ سر).

گروه کنترل ۲ هفتگی: که در سن دو هفتگی وارد پژوهش شده و در طول دوره فعالیت بدنی انجام نمی‌دادند (۵ سر).

گروه تمرین ۸ هفتگی: که در سن هشت هفتگی فعالیت ورزشی خود را شروع کردند (۵ سر).

گروه کنترل ۸ هفتگی: که در سن هشت هفتگی وارد پژوهش شده و در طول دوره فعالیت بدنی انجام نمی‌دادند (۵ سر).

را از دستگاه برداشته به قفسه منتقل می‌کردیم. این آزمایش حداکثر سه بار تکرار می‌شد.

یک روز پس از مرحله اکتساب، آزمایش به یادآوری را انجام می‌دادیم به این ترتیب که حیوان در محیط روشن دستگاه قرار می‌گرفت بعد از ۳۰ ثانیه درب گیوتینی را باز نموده تا حیوان وارد محیط تاریک شود. در این مرحله هیچگونه شوک پایی وارد نمی‌شد. در این مرحله تعداد دفعاتی که حیوان وارد اتاق تاریک می‌شد و زمان سپری شده در اتاق تاریک نیز ثبت می‌گردید. در این بررسی آزمایش اجتنابی غیر فعال جهت اندازه‌گیری حافظه بعد از انجام تمرینات ورزشی در رده‌های مختلف سنی انجام شد (۲۸).

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، کلیه رت‌ها با تزریق کتامین (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلارین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس نمونه خونی از قلب حیوان گرفته شد. پس از اطمینان از قربانی شدن حیوان، با رعایت اصول اخلاقی بافت‌برداری انجام شد. برای برداشتن بافت مغز، جمجمه از ناحیه قدامی و خلفی باز شده و با کمک درز میانی، جمجمه شکافته شده و سپس بافت مغز با بالاترین حساسیت خارج شد. برای نمونه‌برداری بافتی ابتدا بافت مغز به سرعت برداشته شده و در نرمال سالین ۹ درصد شست و شو، سپس قسمت هیپوکامپ حیوانات توسط متخصص آناتومی از مغز جدا شده و در انتها با میکروتیوب به دمای  $-80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد منتقل شد (برای اندازه‌گیری‌های ژن و پروتئین).

جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن (BDNF و Ki67)، ابتدا استخراج RNA از بافت در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام گرفت. برای این کار، میزان ۲۰۰ لاندا کپازول به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $-80^{\circ}\text{C}$  انکوبه شد. پلاک موجود در کرایوتیوب در حالت نیمه انجماد خرد شد و به‌منظور لیز نمونه‌ها، میزان ۱۰۰ لاندا کلروفرم به مدت ۱ دقیقه به آن‌ها اضافه شد. محلول حاصل، با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مایع شفاف قسمت بالایی لوله که حاوی RNA بود به آرامی برداشته و در یک میکروتیوب DEPC شده قرار داده شد. ۱ میلی‌لیتر ایزوپروپانول بر روی RNA شفاف ریخته شد و به مدت ۱ دقیقه با دست به‌هم زده شد. نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس مایع رویی دور ریخته شد و روی رسوب آن ۱ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد اضافه گردید. پس از Vortex کردن، مخلوط در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ قرار گرفت. مایع‌رویی تخلیه گردید و پلاک در داخل میکروتیوب خشک شد. میزان ۲۰ لاندا آب مقطر  $60^{\circ}\text{C}$  درجه بر روی پلاک ریخته

گروه تمرین ۲۴ ماهگی: که در سن بیست و چهار ماه فعالیت ورزشی خود را شروع کردند (۵ سر).

گروه کنترل ۲۴ ماهگی: که در سن بیست و چهار ماه وارد پژوهش شده و در طول دوره فعالیت بدنی انجام نمی‌دادند (۵ سر). برنامه تمرینی به مدت ۶ هفته به‌صورت ترکیب تمرین مقاومتی روی نردبان و تمرین هوازی روی نوارگردان حیوانی (تجهیز گستر ایرانیان، مدل ۲۰۱۶) انجام شد.

برنامه تمرین مقاومتی شامل ۳ جلسه تمرین در هفته (شنبه، دوشنبه، چهارشنبه) به مدت ۶ هفته بود. هر جلسه ۳ نوبت و هر نوبت شامل ۴ بار بالا رفتن از نردبان مخصوص، به ارتفاع ۱ متر و ۲۶ پله با فاصله ۴ سانتی‌متر پله‌ها از هم بود. بین هر نوبت ۳۰ ثانیه استراحت برای حیوانات در نظر گرفته شده بود. پس از بستن وزنه به دم، حیوانات وادار به صعود از نردبان عمودی شدند. اصل اضافه بار با افزایش درصد وزن بدن به‌صورت هفتگی انجام می‌شد بدین‌صورت که در هفته اول میزان وزنه بسته شده به دم حیوان ۳۰٪ و به تدریج از هفته دوم ۷۰٪، هفته سوم ۱۰۰٪، هفته چهارم ۱۲۰٪، هفته پنجم ۱۴۰٪ و هفته ششم ۱۶۰٪ وزن بدن آن‌ها بود (۲۷).

در ابتدا حیوانات به مدت ۳ روز تحت برنامه آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان قرار گرفتند. تمرینات برای ۳ جلسه در هفته (یکشنبه، سه شنبه و پنج شنبه) و در روزهای متناوب با تمرینات مقاومتی و به مدت ۶ هفته انجام شد. شدت تمرین در هفته اول معادل ۵۰ درصد حداکثر سرعت بود. که به تدریج در هفته ششم به ۸۰ درصد رسید. مدت زمان تمرین در هر جلسه تمرینی ۳۰ دقیقه بود.

مرحله سازش: به منظور سازش یا عادت حیوان با محیط، هر رت باید ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش در محیط آزمایشگاه قرار گیرد. در مرحله سازش ابتدا حیوان در محیط روشن دستگاه قرار می‌گرفت. بعد از ۳۰ ثانیه درب گیوتینی باز شده تا حیوان به‌طور غریزی وارد محیط تاریک شود. پس از ورود کامل حیوان به محیط تاریک، درب را بسته و سپس حیوان را از دستگاه برداشته و به قفسه منتقل می‌کنیم.

ب- مرحله آموزش: ۳۰ دقیقه پس از مرحله سازش انجام می‌شد. ابتدا حیوان در محیط روشن دستگاه قرار می‌گرفت، بعد از ۳۰ ثانیه درب گیوتینی را باز نموده و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان وارد اتاق تاریک شود ثبت می‌گردید. پس از ورود درب را بسته و شوک پایی (۵/۱ میلی‌آمپر، ۵ ثانیه) به حیوان وارد می‌شد. ۲۰ ثانیه پس از شوک حیوان را از دستگاه برداشته و به قفسه منتقل شد. دو دقیقه بعد، این مرحله مجدداً تکرار می‌شود اگر حیوان وارد اتاق تاریک می‌شد شوک داده در غیر این‌صورت پس از ۱۲۰ ثانیه ماندن در محیط روشن، حیوان

از میانگین و انحراف استاندارد برای گزارش توصیفی داده‌ها استفاده شد. اطلاعات موردنیاز پس از جمع‌آوری، به‌وسیله نرم‌افزار آماری SPSS در سطح معنی‌داری حداقل  $P \leq 0.05$  تجزیه و تحلیل شد.

### نتایج

تغییرات رفتاری (حافظه) در گروه‌های مختلف پژوهش با استفاده از آزمون شاتل باکس مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمون دو متغیر مدت زمان ماندن در تاریکی (In Dark) و تعداد رفت و برگشت حیوان (Frequency) بررسی شد (شکل ۱). در بررسی نتایج مدت زمان ماندن در تاریکی مشخص شد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد. ( $F=5/201$ ,  $P=0/0091$ ) با این وجود در بررسی بین گروهی با آزمون تعقیبی توکی اختلاف‌های معقول رابطه معنی‌داری نداشتند (گروه تمرین ۲ هفتگی با کنترل ۲ هفتگی، گروه تمرین ۸ هفتگی با کنترل ۸ هفتگی، گروه تمرین ۲۴ ماهگی با کنترل ۲۴ ماهگی). همچنین ارتباط بین گروه‌های تمرینی در رده‌های سنی مختلف معنی‌دار نبود (شکل ۱ الف).

در بررسی نتایج تعداد رفت و برگشت حیوان در تاریکی و روشنایی مشخص شد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد ( $F=7/271$ ,  $P=0/0024$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که گروه تمرین ۲۴ ماهگی کاهش معنی‌داری را در تعداد رفت و برگشت به تاریکی و روشنایی نسبت به گروه کنترل ۲۴ ماهگی نشان داد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۱ ب).

تغییرات بیان ژن BDNF در گروه‌های مختلف پژوهش با استفاده از RT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۲). نتایج آزمون آماری آنوا نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد ( $F=4/453$ ,  $P=0/0159$ ). با این وجود در بررسی بین گروهی با آزمون تعقیبی توکی اختلاف‌های معقول رابطه معنی‌داری نداشتند (گروه تمرین ۲ هفتگی با کنترل ۲ هفتگی، گروه تمرین ۸ هفتگی با کنترل ۸ هفتگی، گروه تمرین ۲۴ ماهگی با کنترل ۲۴ ماهگی). همچنین ارتباط بین گروه‌های تمرینی در زمان‌های مختلف معنی‌دار نبود (شکل ۲). در این میان تنها گروه‌های کنترل ۸ هفته و کنترل ۲۴ ماهه کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه تمرین ۲ هفته نشان دادند ( $P < 0.05$ ).

تغییرات بیان ژن Ki67 در گروه‌های مختلف پژوهش با استفاده از RT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۳). نتایج آزمون آماری آنوا نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد ( $F=8/765$ ,  $P=0/0011$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که گروه تمرین ۲۴ ماهگی کاهش معنی‌داری را در بیان ژن Ki67 نسبت به گروه تمرین ۲ هفتگی نشان داد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۳).

شد و به‌مدت ۵ دقیقه بر روی صفحه‌ی ۶۰ درجه قرار داده شد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری سطوح بیان BDNF و Ki67 با روش کمی-Real time PCR انجام شد. طراحی پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های BDNF و Ki67 در بانک ژنی NCBI توسط شرکت ماکروژن انجام شد. از ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به‌عنوان ژن کنترل استفاده گردید و میزان بیان ژن موردنظر با فرمول  $-\Delta\Delta CT 2$  به روش زیر محاسبه شد.

به‌این‌صورت که ابتدا سیکل آستانه ژن موردنظر هر نمونه از سیکل آستانه ژن خانه‌گردان همان نمونه کم شد. ( $\Delta Ct = Ct \text{ Target} - Ct \text{ Housekeeping}$ ) در مرحله بعد،  $\Delta Ct$  هر نمونه را از نمونه‌ای که نسبت به آن نیاز بود مقایسه شود کم کرده، منفی عدد به‌دست آمده را به‌توان دو رسانده و بیان نسبی ژن BDNF و Ki67 را به دست می‌آوریم.  $\Delta\Delta Ct - E = 2$  ( $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ Target} - \Delta Ct \text{ Reference}$ ) توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ زیر گزارش شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرها

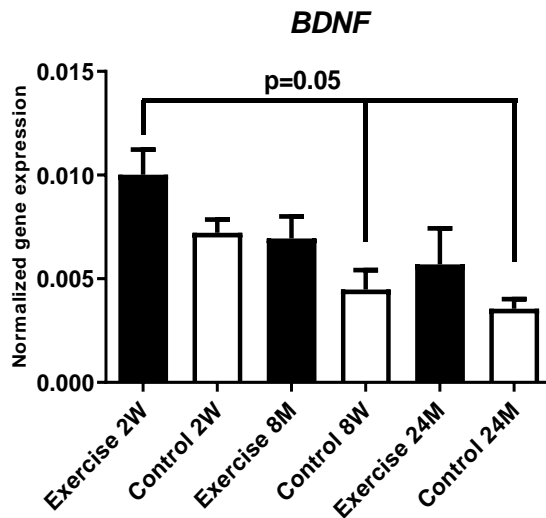
Gene name	Oligo sequence 5' -3'
BDNF	F: 5' TGCAGGGGCATAGACAAAAGG 3'
	R: 5' CTTATGAATCGCCAGCCAATTCTC 3'
Ki67	F: 5' ATTTTCAGTTCGCGCAATCC 3'
	R: 5' GGCTTCGGTCTTCATACCTAAA 3'
GAPDH	F: 5' GTGCCGTTGAATTTGCCGTC 3'
	R: 5' GGAGAGTGTTCCTCGTCCC 3'

برای انجام تست وسترن بلات مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی آکریل آمید PAGE 12% SDS جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ به‌مدت یک ساعت و نیم در محلول بلاکینگ قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی‌بادی اولیه (Anti Ki67) شرکت Abcam: Ki67: abcam و (Anti GAPDH: GTX100118 و GTX20833) در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در روز دوم ۲ بار با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ به‌مدت یک ساعت و نیم با آنتی‌بادی ثانویه (BA1054-2) انکوبه شد. بعد از این مرحله بلات‌ها را با کیت ECL پوشانده و با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شدند. توسط برنامه J Image باندهای به دست آمده دانسیتومتری شدند.

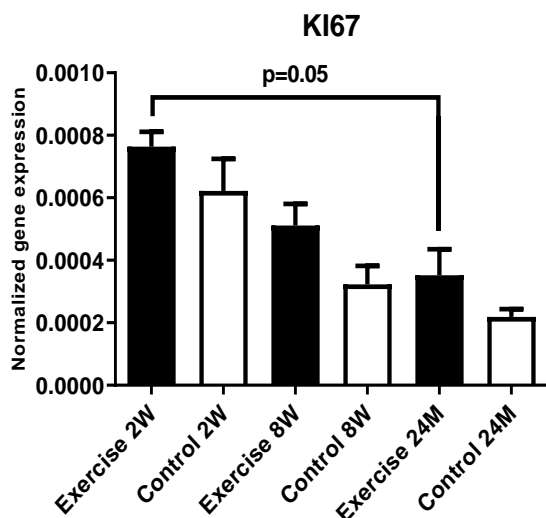
پس از تأیید طبیعی بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک، به‌منظور تعیین معنی‌دار بودن تفاوت میانگین متغیرهای گروه‌های تحقیق، از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده شد.

(الف)

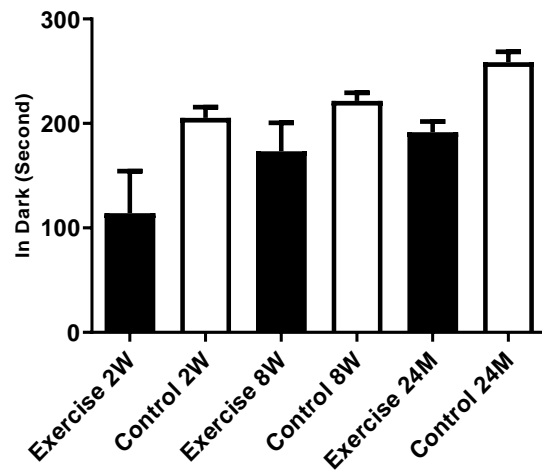
دادند. همچنین گروه تمرین ۲ هفته‌گی افزایش معنی‌دار پروتئین Ki67 را نسبت به گروه‌های تمرین ۸ هفته‌گی و تمرین ۲۴ ماهگی نشان داد (برای هر دو  $P < 0.0001$ ) همچنین افزایش پروتئین گروه تمرین ۸ هفته‌گی نسبت به گروه تمرین ۲۴ ماهگی معنی‌دار بود ( $P < 0.0001$ ).



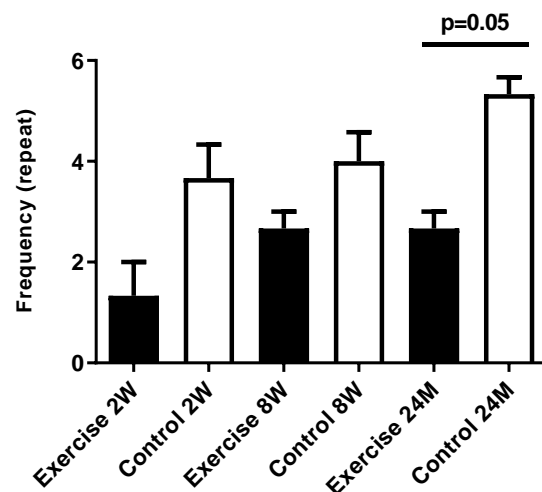
شکل ۲- تغییرات بیان ژن BDNF در گروه‌های مختلف پژوهش. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد ارایه شده است. سطح معنی‌داری برای تمام گروه‌ها ( $P < 0.05$ ) در نظر گرفته شد. Exercise: تمرین ورزشی، Control: کنترل، W: هفته، M: ماه.



شکل ۳- تغییرات بیان ژن Ki67 در گروه‌های مختلف پژوهش. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد ارایه شده است. سطح معنی‌داری برای تمام گروه‌ها  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. Exercise: تمرین ورزشی، Control: کنترل، W: هفته، M: ماه.



(ب)



شکل ۱- تغییرات آزمون‌های رفتاری شاتل باکس (مدت زمان ماندن در تاریکی: الف، و تعداد رفت و برگشت به منطقه تاریک و روشن: ب) در گروه‌های مختلف پژوهش. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد ارایه شده است. سطح معنی‌داری برای تمام گروه‌ها  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. Exercise: تمرین ورزشی، Control: کنترل، W: هفته، M: ماه.

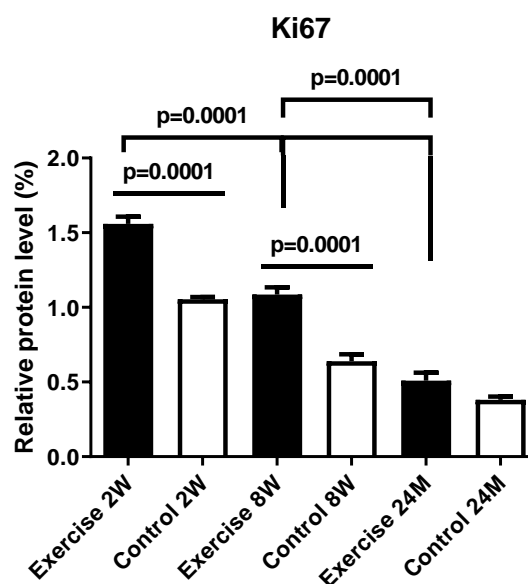
تغییرات بیان پروتئینی Ki67 در گروه‌های مختلف پژوهش با استفاده از وسترن بلات مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۴ الف و ب). نتایج آزمون آماری آنوا نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد ( $F = 111/7$ ,  $P = 0.0001$ ) نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که گروه تمرین ۲ هفته‌گی نسبت به کنترل ۲ هفته‌گی ( $P < 0.0001$ ) و گروه تمرین ۸ هفته‌گی نسبت به کنترل ۸ هفته‌گی ( $P < 0.0001$ )، افزایش معنی‌داری را در بیان پروتئین Ki67 نشان

(الف)

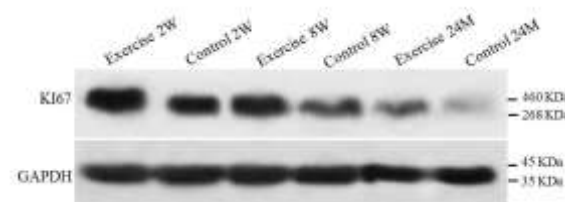
ماهگی کاهش معنی‌داری را در تعداد رفت و برگشت به تاریکی و روشنایی نسبت به گروه کنترل ۲۴ ماهگی نشان داد. فعالیت بدنی می‌تواند بر طیف وسیعی از عملکردهای شناختی تأثیر مثبت بگذارد. همسو با نتایج مطالعه حاضر نشان داده شده که تمرین ورزشی دارای تأثیرات شناختی گسترده و خاص در نمونه انسانی و حیوانی است (۳۵ و ۳۶). از جمله تأثیرات شناختی ناشی از تمرین ورزشی، بهبود برنامه‌ریزی، بهبود حافظه یادآوری، بهبود توانایی مغز در انجام چندین فعالیت و ... می‌باشد، که در مطالعه حاضر نیز حافظه یادآوری حیوانات به‌ویژه در رت‌های مسن با تمرین ترکیبی بهبود یافته (تست شاتل باکس) و میزان رفت و برگشت آنها به منطقه تاریک کمتر شد. با این وجود براساس مطالعات تأثیرات فعالیت بدنی بر شناخت نیز تحت تأثیر مدت زمان برنامه تمرینی، سن، جنس و نوع آزمودنی قرار می‌گیرد.

تغییرات BDNF مطالعه حاضر نیز نشان داد که گروه‌های تمرین نسبت به گروه‌های کنترل افزایش داشتند اما این افزایش معنی‌دار نبود. مقادیر BDNF نیز در هیپوکامپ گروه ۲ هفته بیشتر از گروه‌های مسن تر بود. ورزش عملکرد شناختی را در حیوانات جوان و پیر افزایش می‌دهد (۳۷) همچنین انجام تمرین ورزشی، mRNA و سطح پروتئین BDNF را افزایش می‌دهد، که ممکن است در نوروزن ناشی از ورزش در شکنج دندانه‌دار نقش داشته باشد (۳۸). با این وجود تغییرات BDNF مطالعه حاضر به‌ویژه در گروه مسن معنی‌دار نبود. برخلاف نتایج مطالعه حاضر مجیما و همکاران بیان کردند که تمرین ورزشی هوازی با شدت متوسط می‌تواند از طریق تنظیم بیان BDNF در هیپوکامپ به محافظت از انحطاط عملکرد شناختی در افراد مسن کمک کند. این در حالی بود که در مطالعه حاضر از برنامه تمرینی ترکیبی (مقاومتی+هوازی) استفاده شد که به‌نظر می‌رسد شدت و نوع برنامه تمرینی به‌ویژه در آزمودنی مسن بیان BDNF را تحت تأثیر قرار دهد. علاوه بر این، برخی از فاکتورها نظیر IGF-1 ممکن است واسطه تأثیرات ورزش بر بیان BDNF، نوروزن و عملکرد شناختی باشد (۳۹). نشان داده شده که تزریق سیستمیک IGF-1 در حیوانات کم‌تحرك منجر به بیان c-Fos و BDNF مشابه حیوانات تمرین کرده می‌شود (۳۹). در مطالعه حاضر هر چند تغییرات IGF-1 بررسی نشد اما از آنجایی که IGF-1 بیشترین تأثیر را از تمرینات مقاومتی می‌پذیرد به‌نظر می‌رسد شدت پایین‌تر تمرین مطالعه حاضر با تغییرات اندک IGF-1 بر بیان کمتر BDNF تأثیرگذار باشد. با این وجود پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی نیز تغییرات سایر مارکرها با BDNF ارزیابی شود.

در بررسی تغییرات ژن Ki67 مطالعه حاضر نیز بیشترین افزایش در گروه تمرین ۲ هفته‌گی مشاهده شد. در بررسی پروتئین این مارکر نیز مشخص شد که گروه‌های تمرین ۲ هفته‌گی و تمرین ۸ هفته‌گی افزایش



(ب)



شکل ۴- تغییرات بیان پروتئینی Ki67 با روش وسترن بلات در گروه‌های مختلف پژوهش (الف و ب). داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد ارائه شده است. سطح معنی‌داری برای تمام گروه‌ها  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. Exercise: تمرین ورزشی، Control: کنترل، W: هفته، M: ماه.

### بحث

مطالعات گسترده، تأثیرات مفید فعالیت بدنی (ورزش هوازی یا ورزش مقاومتی) بر تغییرات سلولی، حافظه و جنبه‌های عملکردی مغز را به اثبات رسانده‌اند (۳۱-۳۹). مطالعات حیوانی و انسانی نشان داده‌اند که انجام منظم تمرین ورزشی به‌ویژه هوازی می‌تواند با بهبود عملکرد و هومئوستاز نورون‌های عصبی، تعدادی از جنبه‌های شناختی و عملکردی مغز را بهبود بخشد (۳۲ و ۳۳). کمبود فعالیت بدنی، به‌ویژه در کودکان در کشورهای پیشرفته، یکی از دلایل عمده چاقی است (۳۴). ورزش نه تنها به بهبود سلامت جسمی کمک می‌کند، بلکه می‌تواند عملکرد مغزی و سطح آموزش و یادگیری را نیز بهبود بخشد. مطالعه حاضر اثرات مثبت تمرین ترکیبی را بر روی شناخت و عملکرد مغز، در سطوح مولکولی و سلولی بررسی می‌کند. نتایج آزمون شاتل باکس (یادگیری احترازی غیرفعال) نشان داد که گروه تمرین ۲۴

- electrophysiological recordings. *NeuroImage* 2019;188:335-46. doi: 10.1016/j.neuroimage.2018.12.019
5. Samuel RD, Zavdy O, Levav M, Reuveny R, Katz U, Dubnov-Raz G. The effects of maximal intensity exercise on cognitive performance in children. *J Hum Kinet* 2017;57:85-96. doi: 10.1515/hukin-2017-0050
  6. Ploughman M. Exercise is brain food: the effects of physical activity on cognitive function. *Dev Neurorehabil* 2008;11:236-40. doi: 10.1080/17518420801997007
  7. Bao C, He C, Shu B, Meng T, Cai Q, Li B, et al. Aerobic exercise training decreases cognitive impairment caused by demyelination by regulating ROCK signaling pathway in aging mice. *Brain Res Bull* 2021;168:52-62. doi: 10.1016/j.brainresbull.2020.12.010
  8. Aboudeya HM, Michel TN, Attia MM, Abdou AS. Neuroprotective effect of Exercise on Alzheimer's disease in rats: Role of Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (NRF2). *Abbreviation* 2021:331-43. doi: 10.21608/BESPS.2020.44355.1074
  9. Colcombe S, Kramer AF. Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study. *Psychol Sci* 2003;14:125-30. doi: 10.1111/1467-9280.t01-1-01430
  10. Bialystok E, Craik FI, Craik FI, Craik SSFI. *Lifespan cognition: Mechanisms of change*: Oxford University Press, USA;2006.
  11. Leavitt V, Cimigliaro C, Cohen A, Farag A, Brooks M, Wecht J, et al. Aerobic exercise increases hippocampal volume and improves memory in multiple sclerosis: preliminary findings. *Neurocase* 2014;20:695-7. doi: 10.1080/13554794.2013.841951
  12. Zuniga KE, Mueller M, Santana AR, Kelemen WL. Acute aerobic exercise improves memory across intensity and fitness levels. *Memory* 2019;27:628-36. doi: 10.1080/09658211.2018.1546875
  13. Kim T-W, Kim C-S, Kim J-Y, Kim C-J, Seo J-H. Combined exercise ameliorates ovariectomy-induced cognitive impairment by enhancing cell proliferation and suppressing apoptosis. *Menopause* 2016;23:18-26. doi: 10.1097/GME.0000000000000486
  14. Black JE, Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, Greenough WT. Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:5568-72. doi: 10.1073/pnas.87.14.5568
  15. Kim Y-P, Kim H, Shin M-S, Chang H-K, Jang M-H, Shin M-C, et al. Age-dependence of the effect of treadmill exercise on cell proliferation in the dentate gyrus of rats. *Neurosci Lett* 2004;355:152-4. doi: 10.1016/j.neulet.2003.11.005
  16. Van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience* 1999;2:266-70. doi: 10.1038/6368
  17. Van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci* 2005;25:8680-5. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1731-05.2005
  18. Abshenas R, Artimani T, Amiri I, Shahidi S, Asl SS. Treadmill exercise improves memory and increases hippocampal BDNF in a rat model of alzheimer's disease. *Physiol Pharmacol* 2020;24. doi: 10.1016/j.neuint.2020.104691
  19. Mokhtari-Zaer A, Saadat S, Marefati N, Hosseini M, Boskabady MH. Treadmill exercise restores memory and hippocampal synaptic plasticity impairments in ovalbumin-sensitized juvenile rats: Involvement of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Neurochem Int* 2020;135:104691. doi: 10.1016/j.neuint.2020.104691
  20. Belviranlı M, Okudan N. Exercise training protects against aging-induced cognitive dysfunction via activation of the hippocampal PGC-1 $\alpha$ /FND5/BDNF pathway. *Neuromolecular Med* 2018;20:386-400. doi: 10.1007/s12017-018-8500-3
  21. Adlard PA, Perreau VM, Cotman CW. The exercise-induced expression of BDNF within the hippocampus varies across life-span. *Neurobiol* 2005;26:511-20. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2004.05.006

معنی دار Ki67 را نسبت به گروه‌های کنترل خود نشان دادند (کنترل ۲ و ۸ هفته). همچنین گروه‌های تمرین ۲ هفته‌گی و تمرین ۸ هفته‌گی افزایش معنی‌دار Ki67 را نسبت به گروه تمرین مسن نشان دادند. Ki67 برای ارزیابی نوروژنز استفاده می‌شود (۴۰) و محتوای mRNA آن منعکس‌کننده تقسیم سلول عصبی و تکثیر آن است (۴۱). افزایش تکثیر سلولی و بقای سلول در شکنج دنداندار هیپوکامپ، یکی از اثرات مداوم مشاهده شده ناشی از تمرین ورزشی است (۴۳-۴۱). تکثیر سلول‌های هیپوکامپ و بقای سلول ناشی از ورزش می‌تواند در بسیاری از مراحل رشد، از جمله بزرگسالی و پیری نیز رخ دهد (۱۷) و (۳۲). حتی نوزادان متولد شده با مادرانی که در طی دوره بارداری، ورزش هوازی انجام داده‌اند، تعداد بیشتری از سلول‌ها در هیپوکامپ را نسبت به نوزادان متولد شده از مادران کم‌تحرک به نمایش گذاشتند (۴۴) و (۴۵). تغییرات Ki67 در مطالعه حاضر نشان‌دهنده نوروژنز بیشتر در گروه‌های ۲ هفته و ۸ هفته با تمرین ورزشی می‌باشد. که باتوجه به تغییرات این فاکتور می‌توان بیان کرد که سن به‌عنوان عاملی در میزان تکثیر سلول‌های عصبی محسوب می‌شود که کم‌آنکه در گروه مسن تغییرات Ki67 با تمرین ورزشی محدود بود اما گروه‌های کودک خصوصاً با تمرین ورزشی بیشترین بیان Ki67 را نشان دادند. باتوجه به این گزارش‌ها و نتایج تحقیقات فعلی، به نظر می‌رسد که تمرین ورزشی به‌ویژه در سنین پایین‌تر بر نوروژنز در هیپوکامپ تأثیر می‌گذارد تا یادگیری و حافظه را بهبود بخشد.

براساس نتایج مطالعه حاضر پیشنهاد می‌شود برای بهبود عملکرد شناختی در سنین پایین‌تر، از تمرینات ترکیبی بیشتر استفاده شود. بررسی تغییرات سلولی مولکولی و عملکرد شناختی در مغز آزمودنی سالم نیازمند مطالعات بیشتر می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از تمام کمک‌ها و راهنمایی‌های شرکت بافت و ژن پاسارگاد و همچنین دانشگاه آزاد اسلامی رشت تقدیر و تشکر می‌گردد.

### References

1. Gage F. Exercise for mind and body: Giulio Mancini, collecting, and the beholding of landscape painting in the seventeenth century. *Renaissance Quarterly* 2008;61:1167-207. doi: 10.1016/j.jad.2020.01.012
2. Rådmark L, Hanson LM, Montgomery S, Horwitz EB, Osika W. Mind and body exercises (MBE), prescribed antidepressant medication, physical exercise and depressive symptoms—a longitudinal study. *Journal of Affective Disorders* 2020;265:185-92. doi: 10.1016/j.jad.2020.01.012
3. Kramer AF, Erickson KI, Colcombe SJ. Exercise, cognition, and the aging brain. *J Appl Physiol* 2006;101:1237-42. doi: 10.1152/jappphysiol.00500.2006
4. Chae SY, Jang JH, Im GH, Jeong J-H, Jung W-B, Ko S, et al. Physical exercise enhances adult cortical plasticity in a neonatal rat model of hypoxic-ischemic injury: Evidence from BOLD-fMRI and

22. Garza AA, Ha TG, Garcia C, Chen MJ, Russo-Neustadt AA. Exercise, antidepressant treatment, and BDNF mRNA expression in the aging brain. *Pharmacol Biochem Behav* 2004;77:209-20. doi: 10.1016/j.pbb.2003.10.020
23. Nagata K, Nakashima-Kamimura N, Mikami T, Ohsawa I, Ohta S. Consumption of molecular hydrogen prevents the stress-induced impairments in hippocampus-dependent learning tasks during chronic physical restraint in mice. *Neuropsychopharmacology* 2009;34:501-8. doi: 10.1038/npp.2008.95
24. Yao Y-y, Bian L-g, Yang P, Sui Y, Li R, Chen Y-l, et al. Gastrodin attenuates proliferation and inflammatory responses in activated microglia through Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Brain Res* 2019;1717:190-203. doi: 10.1016/j.brainres.2019.04.025
25. Darzynkiewicz Z, Zhao H, Zhang S, Marietta YL, Ernest YL, Zhang Z. Initiation and termination of DNA replication during S phase in relation to cyclins D1, E and A, p21WAF1, Cdt1 and the p12 subunit of DNA polymerase  $\delta$  revealed in individual cells by cytometry. *Oncotarget* 2015;6:11735-50. doi: 10.18632/oncotarget.4149
26. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000;182:311-22. doi: 10.18632/oncotarget.4149
27. Kim H-J, So B, Son JS, Song HS, Oh SL, Seong JK, et al. Resistance training inhibits the elevation of skeletal muscle derived-BDNF level concomitant with improvement of muscle strength in Zucker diabetic rat. *J Exerc Nutrition Biochem* 2015;19:281. doi: 10.5717/jenb.2015.15112402
28. Hosseinzadeh S, Roshan VD, Pourasghar M. Effects of intermittent aerobic training on passive avoidance test (shuttle box) and stress markers in the dorsal hippocampus of wistar rats exposed to administration of homocysteine. *Iranian Journal of Psychiatry and Behavioral Sciences* 2013;7:37.
29. Kovacevic A, Fenesi B, Paolucci E, Heisz JJ. The effects of aerobic exercise intensity on memory in older adults. *Appl Physiol Nutr Metab* 2020;45:591-600. doi: 10.1139/apnm-2019-0495
30. Marston KJ, Newton MJ, Brown BM, Rainey-Smith SR, Bird S, Martins RN, et al. Intense resistance exercise increases peripheral brain-derived neurotrophic factor. *J Sci Med Sport* 2017;20:899-903. doi: 10.1016/j.jsams.2017.03.015
31. Mitsadali I, Grayson B, Idris NF, Watson L, Burgess M, Neill J. Aerobic exercise improves memory and prevents cognitive deficits of relevance to schizophrenia in an animal model. *J Psychopharmacol* 2020;34:695-708. doi: 10.1177/0269881120922963
32. Koo J-H, Cho J-Y, Lee U-B. Treadmill exercise alleviates motor deficits and improves mitochondrial import machinery in an MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease. *Exp Gerontol* 2017;89:20-9. doi: 10.1016/j.exger.2017.01.001
33. 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* 2005;383:241-5. doi: 10.1016/j.neulet.2005.04.054
34. Elmesmari R, Martin A, Reilly JJ, Paton JY. Comparison of accelerometer measured levels of physical activity and sedentary time between obese and non-obese children and adolescents: a systematic review. *BMC Pediatrics* 2018;18:1-22. doi: 10.1186/s12887-018-1031-0
35. Quaney BM, Boyd LA, McDowd JM, Zahner LH, He J, Mayo MS, et al. Aerobic exercise improves cognition and motor function poststroke. *Neurorehabil Neural Repair* 2009;23:879-85. doi: 10.1177/1545968309338193
36. Radák Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Pucso J, Sasvári M, et al. Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochem Int* 2001;38:17-23. doi: 10.1016/s0197-0186(00)00063-2
37. Stillman CM, Esteban-Corbejo I, Brown B, Bender CM, Erickson KI. Effects of exercise on brain and cognition across age groups and health states. *Trends in Neurosciences* 2020. doi: 10.1016/j.tins.2020.04.010
38. Shih P-C, Yang Y-R, Wang R-Y. Effects of exercise intensity on spatial memory performance and hippocampal synaptic plasticity in transient brain ischemic rats. *PLoS One* 2013;8:e78163. doi: 10.1371/journal.pone.0078163
39. Carro E, Trejo JL, Busiguina S, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *Journal of Neuroscience* 2001;21:5678-84. doi: 10.1523/JNEUROSCI
40. Weissleder C, Fung SJ, Wong MW, Barry G, Double KL, Halliday GM, et al. Decline in proliferation and immature neuron markers in the human subependymal zone during aging: relationship to EGF- and FGF-related transcripts. *Front Aging Neurosci* 2016;8:274. doi: 10.3389/fnagi.2016.00274
41. Brown J, Cooper-Kuhn CM, Kempermann G, Van Praag H, Winkler J, Gage FH, et al. Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci* 2003;17:2042-6. doi: 10.1046/j.1460-9568.2003.02647.x
42. Eadie BD, Redila VA, Christie BR. Voluntary exercise alters the cytoarchitecture of the adult dentate gyrus by increasing cellular proliferation, dendritic complexity, and spine density. *J Comp Neurol* 2005;486:39-47. doi: 10.1002/cne.20493
43. Van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Journal of Comparative Neurology* 1999;96:13427-31. doi: 10.1073/pnas.96.23.13427
44. Kim H, Lee S-H, Kim S-S, Yoo J-H, Kim C-J. The influence of maternal treadmill running during pregnancy on short-term memory and hippocampal cell survival in rat pups. *Int J Dev Neurosci* 2007;25:243-9. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2007.03.003
45. Lee H-H, Kim H, Lee J-W, Kim Y-S, Yang H-Y, Chang H-K, et al. Maternal swimming during pregnancy enhances short-term memory and neurogenesis in the hippocampus of rat pups. *Brain Dev* 2006;28:147-54. doi: 10.1016/j.braindev.2005.05.007





## The Effect of Combined Aerobic and Resistance Exercise Training on Passive Avoidance Learning, BDNF and Ki67 Levels of Hippocampus in Wistar Rats with Different Age Groups

Peyman Hasannejad Malome (Ph.D. Student)<sup>1</sup>, Alireza Elmieh (Ph.D.)<sup>2</sup>, Mohammadreza Fadaie Chafi (Ph.D.)<sup>2</sup>

1- Dept. of Physical Education, Rasht branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

2- Dept. of Physical Education, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

Received: 27 March 2021, Accepted: 20 June 2021

### Abstract:

**Introduction:** The aim of the present study was to investigate the effect of 6 weeks of combined aerobic and resistance training on passive avoidance learning, BDNF and Ki67 levels in the hippocampus of Wistar rats at different age groups.

**Methods:** Thirty male wistar rats were prepared in three age groups of 2 weeks and 8 weeks and 24 months (n=10 in each), and each age group was divided into two groups of control and training (n=5 in each). In the training group, the animals performed resistance and aerobic training once a day. The amount of overload for the resistance training program was determined based on the body weight of the animals. For the aerobic training group, the intensity of training increased from 50% of the maximum speed in the first week to 80% in the last week. At the end of the study, passive avoidance learning was assessed by the shuttle box test.

**Results:** The 24-month-old training group had a significant decrease in the number of round trips to darkness and light (frequency) compared to the 24-month-old control group ( $P < 0.05$ ). Although BDNF mRNA level was highest in the 2-week exercise group but was not significant compared to other exercise groups at different ages ( $P > 0.05$ ). Ki67 protein changes with Western blotting also showed that the 2-week age training groups and the 8-week age training group showed a significant increase compared to their control group (for both  $P = 0.0001$ ).

**Conclusion:** It seems that the older rats are less successful in behavioral tests than other ages due to more severe molecular damage in central nerve system (reduction of BDNF, Ki67), that performing combined exercise can effective in small amount.

**Keyword:** Exercise training, Hippocampal, BDNF.

Conflict of Interest: No

\*Corresponding author: A. Elmieh, Email: elmieh1592@gmail.com

**Citation:** Hasannejad Malome P, Elmieh A, Fadaie Chafi M. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on passive avoidance learning, BDNF and Ki67 levels of hippocampus in wistar rats with different age groups. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2021;16(2):2-10.