

اثرات ورزش ارادی و تزریق استروژن بر اصلاح نارسایی حافظه ترس و کاهش نورونهای هیپوکمپ ناشی از برداشته شدن تخمدان در موش بزرگ آزمایشگاهی

علی رشیدی پور^۱ (Ph.D)، عباس علی وفایی^{۱*} (Ph.D)، کوثر باورصاد^۱ (M.Sc)، سعید حقیقی^۲ (M.Sc)

۱- مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

چکیده

هدف: مطالعات قبلی نشان دادند که ورزش اثرات مفیدی بر فعالیت‌های شناختی دارد و خارج کردن تخمدان‌ها موجب اختلال در یادگیری و حافظه می‌شود. هدف مطالعه حاضر تعیین اثر ورزش ارادی و جایگزینی استروژن بر اثرات برداشته شدن تخمدان (اوارکتومی) بر حافظه ترس و تعداد نورون‌های هیپوکمپ در موش بزرگ آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از رت‌های ماده نژاد ویستار (۱۸۰-۲۲۰ گرم) استفاده شد، حیوانات یک هفته بعد از انجام اوارکتومی (که تخمدان‌های آن‌ها با روش جراحی برداشته شده بود) با دریافت وهیکل (۲ میلی لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن) یا استروژن (۲۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم وزن) به طور روزانه به مدت دو هفته ورزش ارادی انجام دادند. سپس در دستگاه احترازی غیرفعال آموزش دیدند و ۴۸ ساعت بعد حافظه آن‌ها بررسی شد و بلافاصله بعد از آن کشته شده و هیپوکمپ آن‌ها خارج شد و شمارش نورونی در نواحی مختلف آن انجام گردید.

یافته‌ها: آنالیز یافته‌ها نشان داد که اوارکتومی موجب کاهش حافظه و کاهش تعداد نرون‌ها در هیپوکمپ شد و تزریق استروژن و یا ورزش ارادی به تنهایی و توأم به‌طور معنی‌داری این اثرات را اصلاح می‌کند ($P < 0.05$). نتیجه‌گیری: ورزش ارادی ضمن تقویت یادگیری و حافظه و افزایش تعداد نورون‌های هیپوکمپ، موجب اصلاح اختلالات ناشی از اوارکتومی می‌شود. ورزش ارادی یک الگوی مناسب اصلاح اختلالات شناختی در طی منوپوز است.

واژه‌های کلیدی: ورزش، هورمون‌های جنسی زنانه، یادگیری و حافظه فضایی، استروژن، اوارکتومی

مقدمه

و فاکتور شبه انسولینی [۶] و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی [۷] به عنوان عوامل واسطه‌گر در تاثیرات ورزش بر مغز پیشنهاد شده است. مطالعات روی انسان و حیوانات نشان داده که تمرینات فیزیکی مداوم می‌تواند سلامت و عملکرد نورونی را بهبود بخشد و عملکردهای شناختی را ارتقاء داده و حافظه و یادگیری را افزایش دهد [۹،۸]. مطالعات قبلی نشان داده که ورزش نورونز [۱۰] شکل‌پذیری سیناپسی [۱۱] و تعداد نورون‌ها را در هیپوکامپ افزایش می‌دهد [۱۲]. از طرفی

نتایج مطالعات قبلی نشان داده‌اند که فعالیت‌های فیزیکی و ورزش اثرات مفید زیادی بر روی عملکردهای مغزی مثل افزایش در یادگیری و حافظه [۱]، نورونز [۲]، بهبود صدمات مغزی [۳] و اکشن‌های اضطرابی [۴] دارند. در این میان مکانیسم‌هایی مثل فعالیت میانجی‌های عصبی نورآدرنژیک و سروتونرژیک [۵]، BDNF (فاکتور نروتروفیک مشتق از مغز)

موجب افزایش هورمون استروژن و LH می‌شود [۲۰]. در تحقیقی که روی زنان یائسه با درمان جایگزینی هورمون انجام گرفت، تمرینات هوازی باعث بهبود معنی‌داری در خلق و خو و کاهش در علائم اوزوموتور و سوماتیک شده و به تخفیف برخی از علائم یائسگی کمک نموده و مشکلات حافظه را در زنان پس از یائسگی بهبود بخشید [۲۱].

ورزش ارادی تشکیل سلول‌های جدید را در هیپوکمپ موش‌های اوارکتومی شده افزایش می‌دهد و می‌تواند باعث افزایش معنی‌داری در نوروزن در هیپوکمپ بالغین شده و عمل‌کرد حافظه و یادگیری را افزایش دهد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که ورزش ممکن است تولید سلول جدید را در مغز تحت شرایط محرومیت استروژن افزایش داده و در افزایش عمل‌کرد مغز در زنان یائسه موثر است و ضمناً از ظهور بسیاری از علائم در زنان یائسه جلوگیری می‌کند [۲۲]. از طرفی ورزش منجر به افزایش غلظت سروتونین مغز شده که می‌تواند در بهبود افسردگی موثر باشد [۲۳].

از طرفی نشان داده شده است که استروژن در نوروزن هیپوکمپ است [۲۴] و نوروزن ارتباط بسیار نزدیکی با یادگیری و حافظه دارد. هم‌چنین ثابت شده که تشکیل سلول جدید در هیپوکمپ به وسیله‌ی استروژن در گردش در دوران بلوغ دیده می‌شود [۲۵].

برخی مطالعات نشان داده‌اند که نبود طولانی‌مدت هورمون‌های تخمدان بدون درمان جایگزینی با استرادیول موجب کاهش حساسیت ناحیه CA1 هیپوکمپ به افزایش تراکم خارهای دندریتی ناشی از تجویز استرادیول می‌شود [۲۶]. هم‌چنین که زنانی که تجربه‌ی یک یائسگی زودرس را دارند به‌طور معنی‌داری خطر بالاتری برای کاهش عمل‌کرد شناختی ناشی از سن را نشان می‌دهند [۲۷].

در مطالعه‌ای دیده شد، ۶ روز پس از اوارکتومی، یک کاهش معنی‌داری در تکثیر سلول در شکنج دندانه‌ای هیپوکمپ موش بالغ دیده شد. علاوه بر آن، گزارش شده که محرومیت از استروژن برای ۶ روز موجب کاهش در تکثیر سلول‌های بنیادی در شکنج دندانه‌ای می‌شود [۲۸].

تمرینات فیزیکی مداوم مثل رانینگ ویل و دویدن بر روی تردمیل باعث افزایش تکثیر سلولی و بقای سلولی در هیپوکمپ حیوانات بالغ می‌شوند [۱۳].

هم‌چنین مطالعات قبلی نشان داده که استروژن حافظه را از طریق شکل‌پذیری سیناپسی در هیپوکمپ تعدیل می‌کند. عمل سریع ۱۷-بتا استرادیول از طریق گیرنده‌های غشایی برای تشکیل خارهای دندریتی اثبات شده و دیده شده که تراکم این خارها در نورون‌های هرمی CA1 در ۲ ساعت پس از استعمال استرادیول افزایش یافت. بسیاری از محققان دریافتند که فرایند شکل‌گیری و تعدیل حافظه ممکن است بیش‌تر ناشی از اثر استروئیدهای مشتق از هیپوکمپ تا استروئیدهای گنادی در گردش باشد [۱۴]. اثرات سریع استروژن (در ۲-۱ ساعت) بر تعدیل فرایند الکتروفیزیولوژیکی در برش‌های هیپوکمپ مشاهده شده است [۱۵]. از عمل‌کردهای اصلی هورمون‌های جنسی مشتق از مغز، تعدیل سریع شکل‌پذیری سیناپسی و عمل‌کردهای شناختی می‌باشد. دیده شده که تعدیل تولید خار از فعالیت ضروری استروژن در پروسه‌های حافظه است که شامل تولید خارهای جدید است که مکان‌هایی را برای تماس‌های نورونی جدید ایجاد می‌کنند [۱۶].

از طرفی تحقیقات اثرات درمانی جایگزینی هورمون استروژن بر تعدیل حافظه را نشان داده‌اند. دیده شده که استروژن منجر به تقویت خلق و خو و حافظه شفاهی در زنان میان‌سال شده و حافظه کاری و حافظه شفاهی تاخیری بعد از ۳ ماه استفاده از استروژن پیشرفت می‌کند [۱۷]. هم‌چنین استرادیول چندین شکل مختلف حافظه وابسته به هیپوکمپ را در جوانگان ماده بالغ بهبود می‌بخشد، که شامل حافظه فضایی بلندمدت در ماز آبی موریس [۱۸] و حافظه کوتاه‌مدت در ماز شعاعی، ماز تی و شناخت اشیا در محفظه ترس می‌باشد [۱۹]. تحقیقات نشان داده که پس از ۸ هفته تمرینات هوازی و بی‌هوازی که روی ۳۰ نفر از دانشجویان دختر غیر ورزشکار انجام شده، افزایش معنی‌دار استروژن هم‌پس از تمرینات هوازی و هم‌پس از تمرینات بی‌هوازی مشاهده شده است. یافته‌های این تحقیق نشان داد که تمرینات به‌ویژه هوازی

است که میزان دوییدن حیوان بر اساس تعداد دورهای چرخ رانینگ ویل محاسبه می‌شد و در این خصوص محیط چرخ مذکور حدود ۰/۹۹ متر است. میزان مسافت دوییده شده توسط هر موش از فرمول زیر محاسبه شد:

مسافت دوییده شده = (m) محیط چرخ $\times 2 \times \text{تعداد دورهای ثابت شده}$
 $(m) = 0.99 \times 2 \times 3 = 5.94$

روش تزریق دارو

بودر خالص داروی ۱۷- بتا استرادیول (استروژن) از شرکت سیگما خریداری گردید. این دارو را پس از توزین ابتدا در حلال (اتانول ۹۶٪) حل کرده و سپس به محلول مربوطه سالیین اضافه شد تا غلظت اتانول آن به ۴-۶٪ برسد و پس از آن به طور روزانه و به میزان ۲۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم وزن به رت‌های گروه دارویی تزریق شد. رت‌های گروه کنترل، هم روزانه و هیکل ۲ میلی‌لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن دریافت نمودند. تزریق‌ها در طی ۱۴ روز ورزش در ساعت ۶ بعد از ظهر انجام گرفت.

روش برداشتن تخمدان‌ها/ بعد از بی‌هوش کردن حیوان به دنبال تزریق داخل صفاقی کتامین (۷۵ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن) مخلوط با زایلوزین (۱۴ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن)، در ناحیه شکمی - طرفی حیوان در هر دو طرف برش داده می‌شد و پس از لیگاتور کردن لوله‌های رحمی تخمدان‌ها برداشته می‌شد.

روش بافت‌شناسی و شمارش نورونی در هیپوکامپ (Neuron Counting): پس از پایان تست به خاطر آوری (روز ۱۷ از شروع ورزش) تمام موش‌های هر گروه به دنبال بی‌هوشی توسط گیوتین کشته شد و مغز آن‌ها خارج گردید و هیپوکامپ چپ آن‌ها جدا شده و داخل محلول گلژی کاکس قرار داده شد تا فیکس گردد. ضمناً فیکساتیو مذکور در طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت فیکساتیو تازه عوض شد. سپس نمونه‌ها را برای مدت ۶ تا ۱۰ هفته در فیکساتیو فوق و در محل تاریک نگهداری کردیم. پس از این مدت نمونه‌ها فیکس و نوروها رنگ گرفتند. سپس نمونه‌ها را پاساژ داده شد. قابل ذکر است

نتایج مطالعات فوق نشان می‌دهد که ورزش موجب تقویت یادگیری و حافظه می‌شود و از طرفی استروئیدهای جنسی به‌ویژه استروژن اثرات تعدیلی متنوعی بر فرایند یادگیری و حافظه دارند ضمناً دیده شده که در رفتارهای مختلف بین استروئیدهای جنسی و ورزش و احتمالاً اثر آن‌ها بر فرایندهای یادگیری و حافظه اثرات متقابل وجود دارد. بر این اساس هدف این مطالعه تعیین اثرات ورزش ارادی به تنهایی و همراه با تزریق استروژن بر اثرات ناشی از اوارکتومی بر یادگیری و حافظه و شمارش سلولی هیپوکامپ بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه تجربی از ۱۲۰ سر موش‌های ماده بزرگ آزمایشگاهی با وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم و ۲-۳ ماهه از نژاد Wistar استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۵ تایی و در یک اتاق با درجه حرارت نسبتاً ثابت (24 ± 2) و با شرایط مناسب از نظر نور نگهداری می‌شدند و آب و غذای کافی در اختیار داشتند. کلیه آزمایشات بین ساعات ۱۰ صبح تا ۲ بعد از ظهر انجام می‌شد.

داروها

۱۷- بتا استرادیول (استروژن): با دوز ۲۰ میکروگرم به ازاء یک کیلوگرم به صورت روزانه در طی ورزش استفاده شد.

ورزش

هر یک از حیوانات گروه ورزش (Exercise) به مدت دو هفته به یک Running Wheel (چرخ) با ابعاد ۳۴/۵ در ۹/۵ دسترسی داشتند. Running Wheel می‌توانست به صورت آزادانه در برابر یک مقاومت ۱۰۰ گرمی حول محور خود حرکت کند. این چرخ به یک دستگاه شمارنده مربوط بود که چرخش این چرخ را ثبت می‌کرد. هر روز در ساعت شش صبح تعداد چرخش مربوط به شبانه روز گذشته توسط هر یک از چرخ‌ها یادداشت می‌شد. موش‌های صحرایی گروه‌های ساکن (Sedentary) در قفس‌های مشابهی قرار داشتند با این تفاوت که به Running Wheel دسترسی نداشتند. لازم به ذکر

الکتریکی با شدت ۱ میلی آمپر و به مدت ۳ ثانیه از طریق سیم‌های استیل تعبیه شده در کف قسمت تاریک به حیوان اعمال می‌شد.

ج- تست به خاطر آوری: ۴۸ ساعت بعد از آموزش تست به خاطر آوری انجام می‌شد. حیوان در قسمت روشن پشت به درب قرار داده می‌شد و پس از چرخیدن موش به طرف درب، درب باز می‌شد. زمانی که طول می‌کشید (Step-through latency, STL) تا حیوان برای اولین بار وارد قسمت تاریک می‌شد توسط دستگاه اندازه‌گیری می‌شد [۲۹].

گروه‌های آزمایشی

هدف بررسی اثرات ورزش و جایگزینی هورمون استروژن بر اثرات اوارکتومی بر یادگیری و حافظه و شمارش نورونی هیپوکمپ بود که برای این منظور گروه‌های ۱۰ تایی به شرح ذیل انتخاب گردیدند.

گروه ۱: حامل + سالم - غیر ورزشی
(SED-VEH-Sham)

گروه ۲: حامل + برداشتن تخمدان - غیر ورزشی
(SED-VEH-OVX)

گروه ۳: استروژن + برداشتن تخمدان - غیر ورزشی
(SED-EST-OVX)

گروه ۴: حامل + سالم - ورزشی (VE-VEH-Sham)

گروه ۵: حامل + برداشتن تخمدان - ورزشی
(VE-VEH-OVX)

گروه ۶: استروژن + برداشتن تخمدان - ورزشی
(VE-EST-OVX)

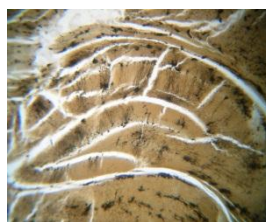
روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون Smirnov-Kolmogorov بررسی شد. از آنجا که توزیع داده‌ها نرمال بود از آنالیز واریانس یک طرفه و تست بعدی توکی استفاده شد.

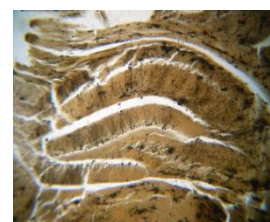
نتایج

آزمایش ۱: بررسی اثر ورزش ارادی و جایگزینی استروژن بر اثرات اوارکتومی بر یادگیری و حافظه در موش بزرگ آزمایشگاهی

که در مراحل پاساژ فیکساتیو فرمالین حذف و به جای آن از فیکساتیو گلژی کاکس استفاده شد و مراحل آب‌گیری توسط الکل با درجات صعودی انجام گرفت. مرحله‌ی شفاف‌سازی با گزیل و مرحله‌ی آغشته‌سازی با پارافین توسط دستگاه اتوتکنیکون انجام شد، سپس نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری و توسط دستگاه میکروتوم از نمونه‌ها در ناحیه هیپوکامپ و برگمای حدوداً ۳/۶۰ - برش تهیه شد. برای هر بلوک ۵ لام با ضخامت حدود ۱۰۰ میکرون تهیه گردید که پس از پارافین‌زدایی توسط حرارت و گزیل توسط چسب سیتولوژی موتته برای بررسی میکروسکوپی آماده گردید. برای شمارش نورونی، ۵ برش از هر نمونه زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ مشاهده شد و در هر برش تمام نورون‌ها در نواحی CA1, CA3, و DG مغز با استفاده از دوربینی که به میکروسکوپ اتصال داشت، شمارش شدند.



(SED-VEH-Sham)



(VE-VEH-Sham)

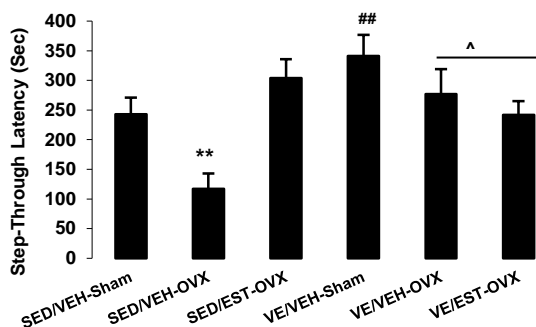
شکل ۱. نمونه‌ای از بررسی بافت شناسی در خصوص شمارش نورونی در نواحی مختلف هیپوکمپ

آموزش یادگیری احترازی غیرفعال:

الف- سازش‌یافتن: هر موش ابتدا در قسمت روشن دستگاه پشت به درب قرار داده می‌شد و وقتی که موش به طرف درب می‌چرخید درب باز می‌شد و اجازه داده می‌شد حیوان وارد قسمت تاریک شد. بلافاصله درب بسته می‌شد و حیوان پس از چند ثانیه از قسمت تاریک گرفته و به قفس بازگردانیده می‌شد. این روش برای دو بار دیگر در فواصل ۳۰ دقیقه‌ای تکرار می‌گردید.

ب- آموزش (اکتساب یادگیری): ۳۰ دقیقه بعد از بار سوم سازش یافتن، اکتساب یادگیری انجام می‌شد. به دنبال وارد شدن موش به قسمت تاریک درب بسته شده و شوک

هدف این آزمایش تعیین اثر ورزش ارادی و جایگزینی استروژن بر اثرات اوارکتومی بر یادگیری و حافظه بود. شکل ۱ اثرات ورزش ارادی و جایگزینی استروژن را بر اثرات اوارکتومی بر حافظه ترس در طی دوره آموزش نشان می‌دهد. ملاک ارزیابی حافظه صرف مدت زمانی بود که طول می‌کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک دستگاه شود. آنالیز واریانس یک طرفه (زمان صرف شده قبل از ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک) در طی آموزش حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها ($F_{3, 28} = 0.323, P = 0.8$) می‌باشد (شکل ۱). این یافته نشان‌دهنده همگون بودن گروه‌ها است.



شکل ۲. اثرات ورزش ارادی و جایگزینی استروژن بر اثرات اوارکتومی بر حافظه ترس در مدل احترازی غیر فعال. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در طی تست بخاطر آوری را نشان می‌دهد.

SED-VEH-Sham در مقایسه با گروه $P < 0.01$ **

SED/VEH-OVX در مقایسه با گروه $P < 0.01$ ^

SED/VEH-OVX در مقایسه با گروه $P < 0.01$ ##

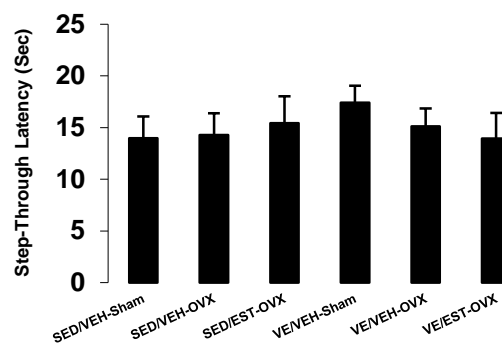
آزمایش ۲: بررسی اثر ورزش ارادی و جایگزینی استروژن بر اثرات اوارکتومی بر شمارش سلولی هیپوکمپ در موش بزرگ آزمایشگاهی

هدف این آزمایش تعیین اثر ورزش ارادی و جایگزینی استروژن بر اثرات اوارکتومی بر شمارش نورنی هیپوکمپ بود.

شکل ۳ تعداد نورون‌های شمارش شده در نواحی مختلف هیپوکمپ را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد.

الف- ناحیه DG: آنالیز واریانس یک طرفه نشان‌دهنده اثرات معنی‌دار تعداد نورون‌ها در بین گروه‌ها ($F_{5, 27} = 11.74, P = 0.003$) است. تست توکی نشان داد که تعداد نورون‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده ورزش (سالم، اوارکتومی و حامل یا دریافت‌کننده استروژن) به طور معنی‌داری از گروه‌های غیر ورزشی (سالم، اوارکتومی و حامل یا دریافت‌کننده استروژن) بیشتر است ($P < 0.05$) در همه موارد).

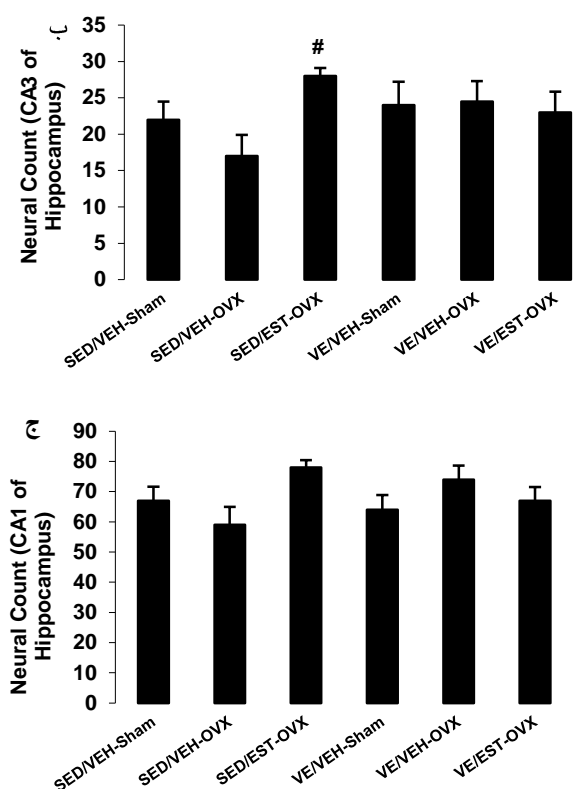
شکل ۱. زمان ورود به قسمت تاریک در طی مرحله آموزش در گروه‌هایی که تخمدان‌های آنها خارج گردیده و تزریق استروژن برای آنها انجام شده است. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین را نشان می‌دهد. در این شکل عدم معنی‌داری نشان‌دهنده همگون بودن گروه‌ها است.



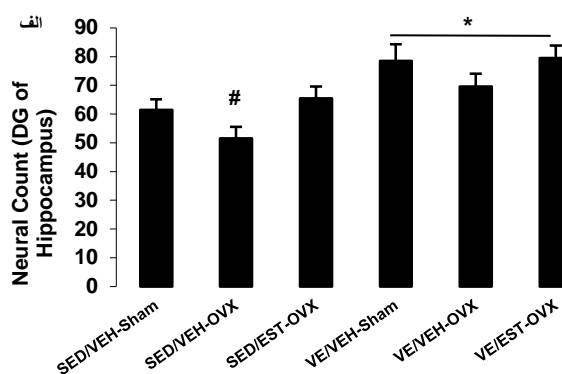
شکل ۲. اثرات ورزش ارادی و جایگزینی استروژن بر اثرات اوارکتومی بر حافظه ترس را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه زمان صرف شده قبل از ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی تست به‌خاطر آوری حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها ($F_{3, 28} = 0.323, P = 0.02$) می‌باشد (شکل ۱). آنالیز بعدی با تست توکی نشان داد که این زمان در گروه فاقد تخمدان نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کم‌تر است ($P < 0.01$). همچنین این زمان در گروه فاقد سالم (شم) ورزشی نسبت به گروه سالم (شم) غیرورزشی به

شکل ۲ اثرات ورزش ارادی و جایگزینی استروژن بر اثرات اوارکتومی بر حافظه ترس را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه زمان صرف شده قبل از ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی تست به‌خاطر آوری حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها ($F_{3, 28} = 0.323, P = 0.02$) می‌باشد (شکل ۱). آنالیز بعدی با تست توکی نشان داد که این زمان در گروه فاقد تخمدان نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کم‌تر است ($P < 0.01$). همچنین این زمان در گروه فاقد سالم (شم) ورزشی نسبت به گروه سالم (شم) غیرورزشی به

د- ناحیه CA1: آنالیز واریانس یک طرفه نشان‌دهنده عدم اثرات معنی‌دار تعداد نورون‌ها در بین گروه‌ها ($P=0/003$). تست توکی نشان داد که تعداد نورون‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده ورزش (سالم، اوارکتومی و حامل یا دریافت‌کننده استروژن) نسبت به گروه‌های غیر ورزشی (سالم، اوارکتومی و حامل یا دریافت‌کننده استروژن) تفاوت معنی‌داری ندارد ($P<0/05$ در همه موارد).



ب-ج- ناحیه CA3: آنالیز واریانس یک طرفه نشان‌دهنده اثرات معنی‌دار تعداد نورون‌ها در بین گروه‌ها ($P=0/02$). تست توکی نشان داد که تعداد نورون‌ها در گروه دریافت‌کننده استروژن و اوارکتومی غیر ورزشی به طور معنی‌داری از گروه حامل سالم غیر ورزشی بیشتر است ($P<0/05$). در بقیه گروه‌ها تعداد نورون‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت.



شکل ۳. اثر ورزش ارادی و جایگزینی استروژن بر اثرات اوارکتومی بر تعداد نورون‌های نواحی مختلف هیپوکمپ را نشان می‌دهد. الف: این شکل مربوط به ناحیه DG نشان می‌دهد که در گروه‌های ورزشی نسبت به گروه‌های غیر ورزشی تعداد نورون‌ها بطور معنی‌داری افزایش و در گروه اوارکتومی کاهش یافته است. ب: این شکل مربوط به ناحیه CA3 نشان می‌دهد که در گروه دریافت‌کننده استروژن غیر ورزشی نسبت به گروه حامل غیر ورزشی تعداد نورون‌ها بطور معنی‌داری افزایش یافته است. ج: این شکل مربوط به ناحیه CA1 نشان می‌دهد که در گروه‌های ورزشی نسبت به گروه‌های غیر ورزشی تعداد نورون‌ها تفاوت معنی‌داری ندارد. $P<0/05$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار تعداد نورون‌ها در مقایسه با گروه کنترل غیر ورزشی است. $P<0/05$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار تعداد نورون‌ها با گروه اوارکتومی غیرورزشی است

۵- جایگزینی استروژن + ورزش منجر به افزایش بیشتر حافظه ترس در گروه‌های اوارکتومی نمی‌شود
اثرات ورزش بر یادگیری و حافظه
نتایج مطالعات قبلی نشان داده‌اند که فعالیت‌های فیزیکی و ورزش اثرات مفید زیادی بر روی عمل‌کردهای شناختی و به‌ویژه یادگیری و حافظه داشته و نورون‌زایی و شکل‌پذیری سیناپسی را در هیپوکامپ افزایش می‌دهد [۱۱] و مکانیسم‌هایی مثل انتقالات نوروترانسمیترهای نورآدرنژیک [۳۰] و سروتونرژیک [۵] فعالیت گیرنده BDNF [۳۱]، فعالیت گیرنده فاکتور شبه انسولینی ۱ [۶] و فعالیت گیرنده فاکتور

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که:

- ۱- ورزش ارادی موجب افزایش حافظه ترس می‌گردد.
- ۲- اوارکتومی حافظه ترس را در موش‌های غیرورزشی کاهش می‌دهد.
- ۳- ورزش نارسایی حافظه ترس ناشی از اوارکتومی را اصلاح می‌کند.
- ۴- جایگزینی استروژن اثرات اوارکتومی را بر حافظه ترس اصلاح می‌کند.

رشد اندوتلیال عروقی [۷] به عنوان واسطه‌های تاثیرات ورزش روی مغز پیشنهاد شده که احتمالاً به افزایش اثرات نوروتروفیکی مرتبط با ورزش و به‌ویژه به تعدیل مقدار BDNF مرتبط می‌باشند [۳۲]. نتایج مطالعه ما نشان داد حیواناتی که ۱۴ روز ورزش کرده بودند عمل‌کرد بهتری نسبت به حیوانات گروه غیر ورزشی در دستگاه احترازی غیر فعال داشتند. در حیوانات گروه ورزش زمان نهفته قبل از ورود به ناحیه تاریک و زمان ماندن در ناحیه روشن به طور معنی‌داری بیش‌تر از حیوانات غیرورزشی بود. بنابراین، ورزش باعث بهبود حافظه و یادگیری در این حیوانات شده است. این یافته، مطالعات دیگران مبنی بر اثرات مثبت ورزش بر یادگیری و حافظه احترازی غیر فعال، حافظه فضایی و حافظه ناشی از ترس را تایید می‌کند.

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تمرینات فیزیکی اثرات مثبتی روی عمل‌کردهای مغزی می‌گذارد و دیده شده که فعالیت‌های فیزیکی می‌تواند زوال شناختی ایجاد شده توسط سن را کاهش دهد و به بهبود بیماری نورودژنراتیو کمک نماید [۳۲]. مطالعات دیگر نشان داد که تمرینات فیزیکی و ورزش مداوم می‌تواند سلامت و عمل‌کرد نورونی را بهبود بخشیده و تعداد نورون‌ها را تعدیل می‌نماید. مکانیسم‌های کنترلی تعداد نورون‌ها ممکن است هم شامل تنظیم تکثیر سلولی و هم مرگ سلولی باشد. البته نشان داده شده که تمرینات فیزیکی مداوم مثل رانینگ ویل و دویدن با تردمیل باعث افزایش تکثیر سلولی و بقای سلولی در شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ جوندگان بالغ می‌شوند [۳۳].

اوارکتومی یادگیری و حافظه احترازی را تخریب می‌کند یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که اوارکتومی باعث اختلال در یادگیری و حافظه می‌شود. مطالعه ما نشان داد که اوارکتومی فاز به‌خاطرآوری حافظه را تخریب می‌کند که این یافته با نتایج به‌دست آمده از دیگر مطالعات همخوانی داشته و نیز قبلاً به اثبات رسیده است. داده‌های ما هم‌چنین نشان دادند که حافظه حیوانات اوارکتومی شده در زمان نهفته قبل از ورود به ناحیه تاریک در مقایسه با حیوانات سالم کاهش یافته

است. نتایج به‌دست آمده از مطالعه ما با نتایج سایر مطالعات در این زمینه تطابق دارد، آن‌ها نشان داده‌اند که اوارکتومی به طور معنی‌داری زمان رسیدن حیوان به سکو را افزایش می‌دهد و نشان داد که حافظه رت‌های اوارکتومی شده در خصوص رسیدن به مکان سکو در تست ماز آبی موریس آسیب‌دیده است، البته در آن مطالعات رت‌ها ۴ هفته قبل از این‌که اوارکتومی شوند آموزش دیده بودند [۳۴]. از طرفی مطالعات اخیر نشان داده‌اند، زنانی که تجربه‌ی یک یائسگی زودرس را دارند، ریسک بسیاری دارند که دچار کاهش عمل‌کرد شناختی ناشی از سن شوند [۲۷]. مطالعات دیگر نشان داد که ۶ روز پس از اوارکتومی، کاهش معنی‌داری در تکثیر سلول در شکنج دندانه‌ای رت دیده می‌شود. علاوه بر این Banasr و همکارانش گزارش کرده‌اند که محرومیت از استروژن برای ۶ روز باعث کاهش در تکثیر سلول در stem cell در شکنج دندانه‌ای می‌شود [۲۸]. هورمون‌های جنسی نقش‌های مهمی را در سیستم تولید مثلی و در مغز بالغین اعمال می‌کنند [۳۵]. دیده شده که محرومیت از استروژن اغلب مشکل‌ساز است، برای مثال در پاتوژنیز بیماری آلزایمر و ایسکمی مغزی [۳۶]. مطالعات بسیاری مطرح می‌کنند که زنان پس از یائسگی مستعد نقص‌های شناختی هستند [۳۷]. نتایج گزارش شده روی رت‌های اوارکتومی شده، نقص‌های شناختی خصوصاً آسیب‌های حافظه فضایی را نشان داده‌اند [۳۸] و احتمالاً مکانیسم مداخله‌کننده کاهش سطوح استروژنی مغز، اشباع ناکافی گیرنده‌های آن (ژنومیک و غیر ژنومیک)، نبود اثرات نوروپروتکتیو استروژن و یک‌سری عوامل ناشناخته است.

ورزش، اختلال یادگیری و حافظه به‌دنبال اوارکتومی را بهبود می‌بخشد

بررسی‌های ما نشان داد که، ورزش اثرات تخریبی اوارکتومی بر یادگیری و حافظه را اصلاح می‌کند. این نتایج، با یافته‌های به‌دست آمده از مطالعات دیگران مطابق می‌باشد، آن‌ها نشان دادند که ورزش و افزایش فعالیت فیزیکی انجام مراحل مربوط به شناخت را هم در بچه‌ها و هم در بزرگسالان بهبود می‌بخشد. مدارکی فراوانی از مطالعات حیوانی در

دندریتی را در ناحیه CA1 هیپوکامپ رت‌ها و مایس‌های ماده افزایش می‌دهد [۴۴].

فعالیت این هورمون با اثر بر روی انعطاف‌پذیری سیناپسی هیپوکامپ ممکن است زمینه‌ی اثرات پیچیده‌ی آن روی حافظه و یادگیری وابسته به هیپوکامپ باشد [۴۵]. اثرات استرادیول روی رفتار وابسته به هیپوکامپ در نهایت منجر به اثرات مستقیم روی نواحی از مغز می‌شود، دیده شده که تزریق آن به داخل هیپوکامپ در رت‌ها و مایس‌های ماده، حافظه فضایی را افزایش می‌دهد [۴۶]. در خصوص این‌که چه مکانیسم‌هایی در اثرات استروئیدهای جنسی و به ویژه استروژن دخیل است دقیقاً مشخص نیست. ولی این نکته حائز اهمیت است که استروئیدها می‌توانند به‌وسیله‌ی مکانیسم‌های ژنومی و از طریق رسپتورهای هسته‌ای و همین‌طور به‌وسیله‌ی مکانیسم‌های غیرژنومی از طریق رسپتورهای مرتبط با غشا و آبشارهای سیگنالینگ اعمال مختلفی را میانجی‌گری کنند [۴۷]. که برای پی بردن به مکانیسم دقیق آن به مطالعات آینده و بیش‌تری نیاز است. البته قبلاً اثبات شده که رسپتورهای استروژن در هیپوکامپ و قشر مغز و نواحی از مغز که در رفتارهای شناختی عالی در انسان‌ها درگیر هستند، مثل زبان، حافظه و فعالیت‌های فضایی یافت شده‌اند، بنابراین جای تعجب نیست که استروئیدهای جنسی اثرات قوی را روی ساختارهای مغزی، عمل‌کرد مغزی و رفتارهای شناختی داشته باشند [۴۸]. عمل‌های استرادیول در مغز برای اغلب قسمت‌ها به‌وسیله‌ی دو رسپتور داخل سلولی مجزای استروژن میانجی‌گری می‌شوند. دو شکل اصلی رسپتورهای استروژن شامل $ER\alpha$ و $ER\beta$ می‌شود [۴۹]. در سیستم عصبی پستانداران، $ER\alpha$ و $ER\beta$ در سرتاسر مغز و طناب نخاعی بیان شده‌اند [۵۰]. نتایج نشان داده‌اند که کاربرد استروژن‌ها در موش‌های اوارکتومی شده حافظه شناختی طولانی‌مدت [۵۱] و هر دو رسپتورهای اصلی داخل سلولی استروژن، $ER\alpha$ و $ER\beta$ را افزایش داده است و نشان داده شده که $ER\alpha$ بیش‌تر از $ER\beta$ درگیر است [۵۲]. از طرفی مطالعات گذشته نشان می‌دهد که استرادیول مسیر آبشاری کیناز را در هیپوکامپ فعال

سیستم‌های مولکولی و سطوح رفتاری موبد این‌که، ورزش مزمن برای حافظه و یادگیری سودمند است، می‌باشند [۳۹]. از طرفی دیده شده که ورزش منظم سلامت عصبی و عمل‌کرد عصبی را بهبود بخشده و بی‌شک یادگیری و حافظه را افزایش می‌دهد [۸]. هم‌چنین تحقیقات گذشته ثابت کرده است که ورزش mRNA [۱۱] و پروتئین BDNF هیپوکامپ را افزایش می‌دهد [۹] فعالیت فیزیکی منجر به فعالیت بیش‌تر مسیره‌های سیگنالینگ مرتبط با بقا می‌شوند و می‌تواند القای LTP هیپوکامپی را افزایش دهد [۱۱] و نشان داده شده که در همه‌ی این‌ها قویاً BDNF درگیر است [۳۱]. هم‌چنین مطالعات گذشته نشان داده‌اند که ورزش به فرم دوییدن اختیاری تکثیر سلولی را در هیپوکامپ مایس‌های اوارکتومی شده افزایش داد [۴۰]. یک مطالعه‌ی کلینیکی نشان داد که، ورزش ممکن است حافظه را در زنان یائسه بهبود ببخشد [۲۱]. اگرچه مکانیسم درگیر در این پروسه هنوز مشخص نشده است ولی شاید یک دلیل آن نوروژنایی و افزایش تولید سلول‌های جدید در هیپوکامپ باشد. ورزش دوییدن هم‌چنین باعث رهاش فاکتورهای تروفیک و بهبود عواقب صدمات مغزی در رت‌ها می‌شود [۴۱]. تولید سلول‌های جدیدی در هیپوکامپ که در طی ورزش صورت می‌گیرد یکی از دلایلی است که باعث تسهیل حافظه و یادگیری به‌دنبال ورزش و به‌ویژه به‌دنبال اوارکتومی می‌شود [۴۲].

استروژن به همراه ورزش، اختلال یادگیری و حافظه به‌دنبال اوارکتومی را بهبود می‌بخشد

ما دریافتیم که تجویز استروژن در موش‌های ورزشی و غیر ورزشی اختلال حافظه به‌دنبال اوارکتومی را بهبود می‌بخشد. این یافته با مطالعات قبلی مبنی بر این‌که کاربرد استروژن وقتی بلافاصله پس از عمل جراحی برداشتن تخمدان‌ها در خانم‌های قبل از مرحله‌ی یائسگی باشد، از کاهش حافظه کلامی جلوگیری می‌کند، هم‌خوانی دارد [۴۳]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که، استرادیول میزان مختلفی از انعطاف‌پذیری سیناپسی را در تشکیلات هیپوکامپ در جوانگان افزایش می‌دهد. استرادیول ساینز و تراکم خارهای

شده است (در ۶ روز) پس از تنها یک دوز تزریق یا درمان مزمن با استرادیول افزایش می‌دهد [۲۵].

مطالعات قبلی نشان داد که در پستانداران، ۱۷-بتا استرادیول اثرات قدرتمندی را روی شبکه‌های عصبی بسیاری دارد که فیزیولوژی و رفتار باروری و غیرباروری را پایه‌گذاری می‌کند [۴۹]. دیده شده که استرادیول تشکیل سلول پیشرو عصبی را در هیپوکامپ رت در *In vivo* در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی بهبود می‌بخشد [۲۵]. اطلاعات جمع‌آوری شده پیشنهاد می‌کنند ۱۷-بتا استرادیول تکثیر سلول عصبی هیپوکامپ را در *In vitro*, *In vivo* و پس از آسیب‌های مغزی بهبود می‌بخشد. در این خصوص مطالعات نشان داده‌اند که نورون‌زایی ناشی از استرادیول به واسطه‌ی گیرنده‌هایش میانجی‌گری می‌شود که ER β اغلب برای عمل‌کرد شناختی وابسته به هیپوکامپ مهم‌تر است [۵۶]. البته تکثیر سلول عصبی ناشی از استرادیول در جوانان به‌وسیله‌ی هم ER α و هم ER β میانجی‌گری می‌شود. در حالی‌که در سلول‌های عصبی کشت شده‌ی انسان تکثیر ناشی از استرادیول تنها به‌وسیله‌ی ER β میانجی‌گری می‌شود [۵۷]. بنابراین استروژن از طریق تعدیل فعالیت گیرنده‌های خود موجب اثر بر تعدیل تعداد نورون‌ها در هیپوکامپ می‌شود. البته برای پی بردن به مکانیسم‌های دقیق‌تر انجام مطالعات بیش‌تری نیاز است.

به‌طور کلی یافته‌های این مطالعه نشان داد که اوارکتومی موجب تضعیف حافظه ترس و کاهش تعداد نورون‌ها در هیپوکامپ می‌شود. ضمناً ورزش اثرات مثبت بر حافظه و یادگیری دارد و به تنهایی و همراه با جایگزینی استروژن موجب تعدیل اثرات اوارکتومی بر یادگیری و حافظه و تعداد نورون‌های هیپوکامپ می‌گردد.

می‌کند و بر بیان پروتئین سیناپسی در دوره‌های زمانی مختلف در نورون‌های هیپوکامپی *Invitro* اثر می‌گذارد [۴۶]. نهایتاً، استرادیول می‌تواند ترجمه BDNF, TrkB و دیگر پروتئین‌های درگیر در سیگنالینگ BDNF را در هیپوکامپ افزایش دهد [۵۳]. این اثرات می‌توانند از مکانیسم‌هایی باشد که در مطالعه حاضر استروژن از طرق آن موجب تعدیل یادگیری و حافظه شده است.

ورزش ارادی و جایگزینی استروژن موجب اصلاح اثرات اوارکتومی بر تعداد نورون‌ها در نواحی هیپوکامپ می‌شود یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که اوارکتومی به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش تعداد نورون‌های هیپوکامپ به‌ویژه در ناحیه شکنج دندان‌های می‌شود. اما ورزش ارادی و تزریق استرون ضمن اصلاح تعداد نورون‌ها به‌ویژه در ناحیه شکنج دندان‌های، موجب افزایش تعداد نورون‌ها در ناحیه CA3 هیپوکامپ در موش‌های اوارکتومی گردید. این یافته هم با نتایج مطالعات دیگران مطابق است. آن‌ها نشان دادند که ورزش با کمک رانینگ ویل و یا دویدن بر روی تردمیل باعث افزایش تکثیر سلولی و بقای سلولی در شکنج دندان‌های هیپوکامپ جوانان بالغ می‌شوند و مکانیسم‌های کنترلی تعداد نورون ممکن است هم شامل تنظیم تکثیر سلولی باشد [۱۳]. هم‌چنین در مطالعه دیگری با استفاده از آنالیز الکترون میکروگرافیک نشان داده شد که استروژن تراکم خارهای سیناپسی را افزایش می‌دهد و پس از تزریق موجب بازسازی سیناپس در رت‌های بالغ اوارکتومی می‌شوند [۵۴]. هم‌چنین در مطالعه دیگری اثرات ژنومی آهسته‌ی استروژن (۴-۱ روز) روی انعطاف‌پذیری خار به‌طور وسیعی در *In vivo* بررسی شد و نتایج نشان داد که استروژن مکمل در رت‌های ماده بالغ اوارکتومی شده تراکم خارهای نورون‌های هرمی ناحیه CA1 استراتوم رادیاتوم را افزایش می‌دهد و سطح خارهای آن‌ها را به سطح رت‌های سالم می‌رساند [۵۵]. در جوانان، استرادیول تکثیر سلول‌های پیشرو عصبی را در شکنج دندان‌های موش‌هایی که به تازگی تخمدان‌های آن‌ها خارج

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه خانم کوثر باورصاد که در جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد فیزیولوژی طراحی شده بود

[14] Hojo Y, Murakami G, Mukai H, Higo S, Hatanaka Y, Ogiue-Ikeda M, et al. Estrogen synthesis in the brain--role in synaptic plasticity and memory. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 290: 31-43.

[15] Mukai H, Takata N, Ishii HT, Tanabe N, Hojo Y, Furukawa A, et al. Hippocampal synthesis of estrogens and androgens which are paracrine modulators of synaptic plasticity: synaptocrinology. *Neuroscience* 2006; 138: 757-764.

[16] Murakami G, Tsurugizawa T, Hatanaka Y, Komatsuzaki Y, Tanabe N, Mukai H, et al. Comparison between basal and apical dendritic spines in estrogen-induced rapid spinogenesis of CA1 principal neurons in the adult hippocampus. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 351: 553-558.

[17] Stephens C, Pachana NA, Bristow V. The effect of hormone replacement therapy on mood and everyday memory in younger mid-life women. *Psychol Health Med* 2006; 11: 461-469.

[18] Harburger LL, Bennett JC, Frick KM. Effects of estrogen and progesterone on spatial memory consolidation in aged females. *Neurobiol Aging* 2007; 28: 602-610.

[19] Bohacek J, Daniel JM. Increased daily handling of ovariectomized rats enhances performance on a radial-maze task and obscures effects of estradiol replacement. *Horm Behav* 2007; 52: 237-243.

[20] Slaven L, Lee C. Mood and symptom reporting among middle-aged women: the relationship between menopausal status, hormone replacement therapy, and exercise participation. *Health psychol* 1997; 16: 203-208.

[21] Aiello EJ, Yasui Y, Tworoger SS, Ulrich CM, Irwin ML, Bowen D, et al. Effect of a yearlong, moderate-intensity exercise intervention on the occurrence and severity of menopause symptoms in postmenopausal women. *Menopause* 2004; 11: 382-388.

[22] Shangold MM. Exercise in the menopausal woman. *Obstet Gynecol* 1990; 75: 53S-58S.

[23] Brown BS, Payne T, Kim C, Moore G, Krebs P, Martin W. Chronic response of rat brain norepinephrine and serotonin levels to endurance training. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 1979; 46: 19-23.

[24] Ormerod BK, Lee TT, Galea LA. Estradiol enhances neurogenesis in the dentate gyri of adult male meadow voles by increasing the survival of young granule neurons. *Neuroscience* 2004; 128: 645-654.

[25] Tanapat P, Hastings NB, Reeves AJ, Gould E. Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. *J Neurosci* 1999; 19: 5792-5801.

[26] McLaughlin KJ, Bimonte-Nelson H, Neisewander JL, Conrad CD. Assessment of estradiol influence on spatial tasks and hippocampal CA1 spines: Evidence that the duration of hormone deprivation after ovariectomy compromises 17 β -estradiol effectiveness in altering CA1 spines. *Horm Behav* 2008; 54: 386-395.

[27] Shuster LT, Rhodes DJ, Gostout BS, Grossardt BR, Rocca WA. Premature menopause or early menopause: long-term health consequences. *Maturitas* 2010; 65: 161-166.

[28] Banasr M, Hery M, Brezun JM, Daszuta A. Serotonin mediates oestrogen stimulation of cell proliferation in the adult dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 2001; 14: 1417-1424.

[29] Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Taherian AA, Miladi-Gorji H, Sadeghi H, Fathollahi Y, Bandegi AR. Verapamil enhances acute stress or glucocorticoid-induced deficits in retrieval of long-term memory in rats. *Behav Brain Res* 2009; 203: 76-80.

[30] Ebrahimi S, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Akhavan MM, Haghghi S. Influence of basolateral amygdala lesion

استخراج شده است و بدین وسیله از معاونت و شورای محترم پژوهشی دانشگاه در جهت تصویب طرح آن و از همه همکاران مرکز تحقیقات فیزیولوژی سمنان که در تمامی مراحل اجرای آزمایشات همیار ما بودند صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

[1] Akhavan MM, Miladi-Gorji H, Emami-Abarghoie M, Safari M, Sadighi-Moghaddam B, Vafaei AA, Rashidy-Pour A. Maternal voluntary exercise during pregnancy enhances the spatial learning acquisition but not the retention of memory in rat pups via a TrkB-mediated mechanism: the role of hippocampal BDNF Expression. *Iran J Basic Med Sci* 2013; 16: 955.

[2] van Praag H. Neurogenesis and exercise: past and future directions. *Neuromolecular Med* 2008; 10: 128-140.

[3] Grealy MA, Johnson DA, Rushton SK. Improving cognitive function after brain injury: the use of exercise and virtual reality. *Arch Phys Med Rehabil* 1999; 80: 661-667.

[4] Ghaffari Z, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Hadjzadeh MAR, Hosseini SM. Effects of maternal hypothyroidism during pregnancy on anxiety-like behaviors in adulthood rats: Impact of moderate treadmill exercise. *Koomesh* 2016; 17: 707-717. (Persian).

[5] Ivy AS, Rodriguez FG, Garcia C, Chen MJ, Russo-Neustadt AA. Noradrenergic and serotonergic blockade inhibits BDNF mRNA activation following exercise and antidepressant. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 75: 81-88.

[6] 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. *J Neurosci* 2001; 21: 5678-5684.

[7] Fabel K, Fabel K, Tam B, Kaufer D, Baiker A, Simmons N, et al. VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 2003; 18: 2803-2812.

[8] Sutoo D, Akiyama K. Regulation of brain function by exercise. *Neurobiol Dis* 2003; 13: 1-14.

[9] Tanehkar F, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Sameni HR, Haghghi S, Miladi-Gorji H, et al. Voluntary exercise does not ameliorate spatial learning and memory deficits induced by chronic administration of nandrolone decanoate in rats. *Horm Behav* 2013; 63: 158-165.

[10] van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 13427-13431.

[11] Farmer J, Zhao X, van Praag H, Wodtke K, Gage FH, Christie BR. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience* 2004; 124: 71-79.

[12] van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* 1999; 2: 266-270.

[13] Kim SH, Kim HB, Jang MH, Lim BV, Kim YJ, Kim YP, Kim SS, et al. Treadmill exercise increases cell proliferation without altering of apoptosis in dentate gyrus of Sprague-Dawley rats. *Life Sci* 2002; 71: 1331-1340.

- [46] Fan L, Zhao Z, Orr PT, Chambers CH, Lewis MC, Frick KM. Estradiol-induced object memory consolidation in middle-aged female mice requires dorsal hippocampal extracellular signal-regulated kinase and phosphatidylinositol 3-kinase activation. *J Neurosci* 2010; 30: 4390-4400.
- [47] McEwen BS, Alves SE. Estrogen actions in the central nervous system 1. *Endocr Rev* 1999; 20: 279-307.
- [48] Shughrue P, Scrimo P, Lane M, Askew R, Merchenthaler I. The distribution of estrogen receptor- β mRNA in forebrain regions of the estrogen receptor- α knockout mouse. *Endocrinology* 1997; 138: 5649-5652.
- [49] Walter P, Green S, Greene G, Krust A, Bornert JM, Jeltsch JM, et al. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82: 7889-7893.
- [50] Laflamme N, Nappi RE, Drolet G, Labrie C, Rivest S. Expression and neuropeptidergic characterization of estrogen receptors (ERa and ERb) throughout the rat brain: anatomical evidence of distinct roles of each subtype. *J Neurobiol* 1998; 36: 357-378.
- [51] Tang AC, Nakazawa M, Romeo RD, Reeb BC, Sisti H, McEwen BS. Effects of long-term estrogen replacement on social investigation and social memory in ovariectomized C57BL/6 mice. *Horm Behav* 2005; 47: 350-357.
- [52] Choleris E, Kavaliers M, Pfaff D. Functional genomics of social recognition. *J Neuroendocrinol* 2004; 16: 383-389.
- [53] Akama KT, McEwen BS. Estrogen stimulates postsynaptic density-95 rapid protein synthesis via the Akt/protein kinase B pathway. *J Neurosci* 2003; 23: 2333-2339.
- [54] MacLusky NJ, Luine VN, Hajszan T, Leranath C. The 17 α and 17 β isomers of estradiol both induce rapid spine synapse formation in the CA1 hippocampal subfield of ovariectomized female rats. *Endocrinology* 2005; 146: 287-293.
- [55] Woolley CS, McEwen BS. Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. *J Comp Neurol* 1993; 336: 293-306.
- [56] Garcia-Segura LM, Arévalo MA, Azcoitia I. Interactions of estradiol and insulin-like growth factor-I signalling in the nervous system: new advances. *Prog Brain Res* 2010; 181: 251-272.
- [57] Wang JM, Liu L, Brinton RD. Estradiol-17 β -induced human neural progenitor cell proliferation is mediated by an estrogen receptor β -phosphorylated extracellularly regulated kinase pathway. *Endocrinology* 2008; 149: 208-218.
- on the inhibitory effects of propranolol on voluntary exercise- induced enhancement of learning and memory. *Koomesh* 2010; 11: 145-153. (Persian).
- [31] Shafiee SM, Vafaei AA, Rashidy-Pour A. Effects of maternal hypothyroidism during pregnancy on learning, memory and hippocampal BDNF in rat pups: Beneficial effects of exercise. *Neuroscience* 2016; 329: 151-161.
- [32] Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 2002; 25: 295-301.
- [33] Kim BK, Seo JH. Treadmill exercise alleviates post-traumatic stress disorder-induced impairment of spatial learning memory in rats. *J Exerc Rehabil* 2013; 9: 413-419.
- [34] Ben J, Soares FM, Scherer EB, Cechetti F, Netto CA, Wyse AT. Running exercise effects on spatial and avoidance tasks in ovariectomized rats. *Neurobiol Learn Mem* 2010; 94: 312-317.
- [35] Wise PM. Estrogens and neuroprotection. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13: 229-230.
- [36] van Duijn CM. Hormone replacement therapy and Alzheimer's disease. *Maturitas* 1999; 31: 201-205.
- [37] Green PS, Simpkins JW. Neuroprotective effects of estrogens: potential mechanisms of action. *Int J Dev Neurosci* 2000; 18: 347-358.
- [38] Monteiro SC, Matté C, Bavaresco CS, Netto CA, Wyse AT. Vitamins E and C pretreatment prevents ovariectomy-induced memory deficits in water maze. *Neurobiol Learn Mem* 2005; 84: 192-199.
- [39] van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. *Trends Neurosci* 2009; 32: 283-290.
- [40] Jin J, Jing H, Choi G, Oh MS, Ryu JH, Jeong JW, et al. Voluntary exercise increases the new cell formation in the hippocampus of ovariectomized mice. *Neurosci Lett* 2008; 439: 260-263.
- [41] Wu CW, Chen YC, Yu L, Chen HI, Jen CJ, Huang AM, et al. Treadmill exercise counteracts the suppressive effects of peripheral lipopolysaccharide on hippocampal neurogenesis and learning and memory. *J Neurochem* 2007; 103: 2471-2481.
- [42] Hillman CH, Erickson KI, Kramer AF. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9: 58-65.
- [43] Sherwin BB. Estrogen and cognitive functioning in women: lessons we have learned. *Behav Neurosci* 2012; 126: 123.
- [44] González-Burgos I, Alejandro-Gómez M, Cervantes M. Spine-type densities of hippocampal CA1 neurons vary in proestrus and estrus rats. *Neurosci Lett* 2005; 379: 52-54.
- [45] Frick KM. Estrogens and age-related memory decline in rodents: what have we learned and where do we go from here? *Horm Behav* 2009; 55: 2-23.

Voluntary exercise and estrogen replacement ameliorate the impairment of fear memory and decrease in the number of neurons in the hippocampus induced by ovariectomy in rats

Ali Rashidy-Pour (Ph.D)¹, Abbas Ali Vafaei (Ph.D) ^{*1}, Kowsar Bavarsad (M.Sc)¹, Saeed Haghghi (M.Sc)²
1 - Research Center and Department of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
2 – Research Center of Nervous System Stem Cells, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 16 Sept 2016; Accepted: 23 Apr 2017)

Introduction: Previous studies indicated that the exercise has beneficial effects on cognitive activities and ovariectomies causes the impairment of learning and memory. The aim of this study was to determine the influence of voluntary exercise and estrogen replacement on the effects of ovariectomy on fear memory and hippocampal neuron number in rat.

Materials and Methods: In this experimental study, adult female Wistar rat (180-220 gr) were used. One week after ovariectomy, the rats received β -Stradiol (estrogen 20 μ g/kg) or vehicle (2ml/kg) daily and were allowed to freely exercise in a running wheel for 2 weeks. After this period, their learning and memory were trained and tested on a passive avoidance task that succeeded by a retention test two days later. Then, all animal were decapitated, and their hippocampi were removed. The number of neurons was counted in different regions of hippocampus.

Results: Analysis of data indicated that the ovariectomy impaired the fear memory and decreased the number of neurons in the hippocampus. Voluntary exercise or estrogen replacement alone, and together improved the deficits in fear memory and neuron counting induced by ovariectomy

Conclusion: Voluntary exercise and estrogen have beneficial effects on cognitive deficits associated with the reduction of female sex hormones such as seen in post-menopausal woman.

Keywords: Exercise, Passive avoidance memory, Ovariectomy, Estrogen, Menopause

* Corresponding author. Tel: +98 23 3365417
Aavaf43@gmail.com