

مهار تولید گلوکوکورتیکوئیدها و برداشتن غده فوق کلیوی مانع اثرات مثبت ورزش بر حافظه ترس و تعداد نرون‌های هیپوکمپ در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی می‌شود

عباسعلی وفایی^۱ (Ph.D)، علی رشیدی‌پور^{۱*} (Ph.D)، راضیه حاجی‌سلطانی^۱ (M.Sc)، حمیدرضا ثامنی^۲ (Ph.D)

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 جدید نشان می‌دهند که ورزش اثرات مفیدی بر فعالیت‌های شناختی و سلامت مغز دارد. از طرف دیگر گلوکوکورتیکوئیدها نقش مهمی در یادگیری و حافظه هیجانی برای می‌کنند و فعالیت آنها در طی ورزش زیاد می‌شود. در مطالعه قبلی ما نشان دادیم که گلوکوکورتیکوئیدها نقش مهمی در وساطت اثرات ورزش ارادی بر حافظه فضایی دارند. هدف مطالعه حاضر بررسی نقش گلوکوکورتیکوئیدها در اثرات مثبت ورزش بر حافظه ترس در مدل احترازی مهاری و تعداد نرون‌های هیپوکمپ بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، در آزمایش اول حیوانات به دنبال تزریق داخل صفاقی متی‌راپون (مهاری‌کننده سنتز گلوکوکورتیکوئید) و در آزمایش دوم حیوانات آدرنالکتومی شده (که غده فوق کلیوی آنها با روش جراحی برداشته شده بود) با یا بدون دریافت کورتیکوسترون خوراکی به مدت ۱۰ شبانه روز ورزش ارادی انجام دادند. سپس همه موش‌ها در دستگاه احترازی غیر فعال آموزش دیدند. ۴۸ ساعت بعد از آموزش به خاطر آوری حافظه ارزیابی شد و در انتها مغز آنها خارج و تعداد نرون‌ها در ناحیه شکنج دندان‌دار هیپوکمپ شمارش شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که ورزش به تنهایی حافظه ترس و تعداد نرون‌ها هیپوکمپ را افزایش داد، در حالی که این اثر در حیوانات دریافت‌کننده متی‌راپون و فاقد غده فوق کلیه دیده نشد. همچنین، تزریق متی‌راپون و برداشتن غدد فوق کلیه به تنهایی اثر معنی‌داری بر تعداد نرون‌های هیپوکمپ نداشتند.

نتیجه‌گیری: هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی نقش مهمی در اثرات مفید ورزش ارادی بر تشکیل حافظه ترس و تعداد نورونهای هیپوکمپ دارند.

واژه‌های کلیدی: ورزش، یادگیری و حافظه فضایی، سیستم گلوکوکورتیکوئید، آدرنالکتومی، متی‌راپون

مقدمه

مطالعات قبلی نشان داده است که فعالیت فیزیکی و ورزش اثرات مثبت زیادی بر روی انواع سیستم‌های بیولوژیکی از جمله عضلات، قلب و عروق و سیستم ایمنی و سیستم اعصاب مرکزی دارد [۱] و در سیستم عصبی موجب تقویت یادگیری و

حافظه، بهبود فعالیت‌های شناختی، افزایش نرون‌زایی و میزان شکل‌پذیری سیناپسی و انتقال نوروترنسمیتر و بیان ژن فاکتورهای رشد در هیپوکامپ موش می‌شود [۲]. هر چند ورزش ارادی منجر به بهبود یادگیری و حافظه می‌شود [۳]، ولی مکانیسم‌های درگیر در اثرات آن روشن نیست. در طی

می‌رود که گلوکوکورتیکوئیدها در این اثرات نقش واسطه‌ای داشته باشند.

مطالعات فراوان نشان می‌دهند که گلوکوکورتیکوئیدها (کورتیکوسترون در جوندگان و کورتیزول در انسان) قادر هستند عمل‌کرد سیستم عصبی از جمله یادگیری و حافظه [۱۰] و واکنش‌های اضطرابی [۱۱] را تحت تاثیر قرار دهند. این ترکیبات قادرند به راحتی از سد خونی-مغزی عبور کرده و با اثر گذاشتن بر ساختارهای عصبی دخیل در یادگیری و حافظه به ویژه قشر مغز و سیستم لیمبیک منجر به افزایش یادگیری و حافظه شوند. البته لازم به ذکر است، اثرات گلوکوکورتیکوئیدها بر حافظه و یادگیری به شکل U معکوس است، به این معنی که هم در غلظت‌های پایین و هم در غلظت‌های بالا اثرات منفی بر حافظه و یادگیری دارند، در حالی که در غلظت‌های حد واسطه اثرات مثبت دارند [۱۲، ۱۳].

هورمون‌های کورتیکواستروئیدی دارای اثرات ژنی و غیر ژنی می‌باشد. اثرات ژنی از طریق گیرنده‌های سیتوپلاسمی سبب تغییر در میزان بیان ژن می‌شوند و اثرات غیر ژنی آن از طریق اثر گذاشتن بر روی کانال‌های یونی و رسپتورهای نروترنسمیتری در غشاء سلول اعمال می‌شود [۱۴]. علاوه بر این مطالعات قبلی نشان داده که گلوکوکورتیکوئیدها با اثر بر روی نواحی هیپوکامپ و هسته‌های آمیگدال موجب اثرات مغزی می‌شوند. در واقع تعدادی از اعمال حافظه که ناشی از گلوکوکورتیکوئیدها می‌باشد، از طریق هسته‌های قاعده‌ای جانبی آمیگدال وساطت می‌شود. برای مثال در موش‌هایی که هسته‌های قاعده‌ای جانبی آمیگدال تخریب می‌گردد، اثرات افزایش حافظه ناشی از تزریق مستقیم آگونیست گیرنده GR به داخل هیپوکامپ بلوکه می‌شود [۱۵].

به طور کلی، با توجه به اثرات مثبت ورزش بر یادگیری و حافظه و هم‌چنین افزایش فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز- فوق کلیه و در نتیجه افزایش گلوکوکورتیکوئیدها خون در طی ورزش، هدف اصلی این مطالعه تعیین نقش سیستم گلوکوکورتیکوئیدی در اثرات مثبت ورزش ارادی بر

ورزش با فعال شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال غلظت گلوکوکورتیکوئیدهای خون افزایش می‌یابد. هم‌چنین مطالعات نشان می‌دهد که دوییدن اختیاری مزمن در موش‌ها در هنگام اوج ریتم سیرکادین شبانه‌روزی بدون این که تغییری در غلظت ACTH به وجود بیاید باعث افزایش غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون می‌شود. در طی ورزش مقادیر پروتئین [Steriodogenic Acute Regulatory Protein] (StAR) زیاد می‌شود. این پروتئین نقش مهمی در سنتز کورتیکوسترون دارد. از طرف دیگر در طی ورزش عصب اسپلانکتیک که به غدد آدرنال عصب‌دهی می‌کند، فعال می‌شود. فعال شدن این عصب باعث می‌شود، که میزان سنتز آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز افزایش یابد و زمانی که این آنزیم بیش‌تر تولید شود، میزان تولید کاتکولاآمین‌ها، نروترنسمیترها و سایتوکاین‌ها که از این قسمت آزاد می‌شود، نیز افزایش می‌یابد و این فاکتورها به صورت پاراکرین بر روی سنتز گلوکوکورتیکوئیدها اثر مثبت می‌گذارند [۴].

هم‌چنین مطالعات انسانی نشان می‌دهند که فعالیت‌های ورزشی قادر هستند غلظت گلوکوکورتیکوئیدهای خون را افزایش دهند [۵]. ضمناً مطالعات نشان می‌دهند که گلوکوکورتیکوئیدها نقش مهمی در تنظیم یادگیری و حافظه بازی می‌کنند، احتمالاً این سیستم می‌تواند نقش مهمی در اعمال اثرات ورزش بر حافظه داشته باشد.

هم‌چنین شواهد قبلی زیادی نشان داده است که تمرینات فیزیکی مداوم ممکن است سلامت نورونی و عمل‌کرد نورونی را بهبود بخشد [۲] و موجب ارتقاء عمل‌کرد شناختی گردد [۶] هم‌چنین دیده شده ورزش بر عمل‌کرد مغز اثر مفید داشته، به طوری که حافظه و یادگیری را افزایش داده [۷] و واکنش‌های اضطرابی را کاهش می‌دهد [۸]. شواهد علمی نشان می‌دهند که ورزش بر روی تعداد نورون‌ها تاثیر می‌گذارد و نشان داده شده که تعداد نورون‌های هیپوکامپ رت‌های بالغی که ورزش داده شده‌اند، نسبت به آن‌هایی که تحت شرایط نرمال بوده‌اند افزایش یافته است [۹] و احتمال

مسافت دویده شده (m) = محیط چرخ $2\pi r \times$ تعداد دوره‌های ثبت شده.

مسافت دویده شده (m) = $(34/5 \times 3/14) \times$ تعداد دوره‌های ثبت شده.

روش تزریق دارو. روزانه ۵۰ میلی‌گرم متی‌راپون را در ۲ میلی‌لیتر حلال حل کرده و با دوز ۵۰ mg/kg/۲ml به رت‌های گروه دارویی تزریق شد. در عین حال به رت‌های کنترل، هم روزانه ۲ ml نرمال و هیکل تزریق شد. تزریق‌ها در طی ده روز ورزش در ساعت شش بعد از ظهر انجام گرفت.

روش برداشتن غده فوق کلیوی. روش جراحی به این صورت است که جراحی در صبح بین ساعت ۱۰-۱۳ صورت می‌گرفت و بعد از بی‌هوش کردن حیوان با کتامین ۷۰ mg/kg (به صورت داخل صفاقی تزریق می‌شود) در ناحیه پشتی حیوان برش داده می‌شد و غده فوق کلیه برداشته می‌شد. بعد از جراحی به حیوان، به منظور حفظ تعادل الکترولیتی سرم فیزیولوژیک نرمال داخل آب آشامیدنی حیوان ریخته می‌شود.

روش اندازه‌گیری کورتیکوسترون

برای اندازه‌گیری کورتیکوسترون از روش و کیت ایمونواسی استفاده شد. برای این کار، بلافاصله پس از انجام تست به خاطر آوری در گروه‌های مورد آزمایش، با گردن زدن حیوان، خون آن‌ها جمع‌آوری و پس از سانتریفیوژ کردن (۳۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه) سرم به دست آمده تا زمان اندازه‌گیری کورتیکوسترون در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. برای اندازه‌گیری کورتیکوسترون کیت‌های رادیوایمونواسی (تهیه شده از شرکت Boldon انگلیس) مورد استفاده قرار گرفت. حساسیت این کیت‌ها ۰/۳۹ نانوگرم در میلی‌لیتر بود.

روش بررسی بافت‌شناسی. به منظور شمارش تعداد نوروها در هیپوکامپ، ابتدا حیوانات تحت شرایط بی‌هوشی کامل کشته شده و مغز آن‌ها خارج و به مدت یک هفته در محلول ثابت‌کننده پارافمالدهید ۴٪ در بافر فسفات ۰/۱ M با pH=۷/۴ ثابت گردید. سپس ناحیه هیپوکامپ از بقیه مغز جدا شده و پس از شستشو با آب مقطر با استفاده از دستگاه

حافظه ترس در مدل احترازی مهاری و تعداد نوروهای هیپوکامپ بوده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی. موش‌های صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar به وزن ۱۸۰-۲۰۰ گرم که همگی در حیوان‌خانه گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان پرورش داده شده بودند، به صورت تصادفی انتخابی در گروه‌های مورد نظر قرار گرفتند. در طول آزمایش‌ها تمام موش‌های صحرایی به صورت جداگانه در قفس‌های پلی‌اتیلنی در یک چرخه شبانه‌روزی دوازده ساعت روشنایی و دوازده ساعت تاریکی و هم‌چنین دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و آب و غذا در دسترس آن‌ها قرار داشت.

داروها

۱- متی‌راپون: این دارو مهارگر سنتز گلوکوکورتیکوئید است. با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم داخل صفاقی استفاده شد.

۲- کورتیکوسترون: که با دوز ۲۰ میکروگرم در یک میلی‌لیتر آب خوراکی استفاده شد.

ورزش. هر یک از حیوانات گروه ورزش (Exercise) به مدت ده شبانه روز 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 هشت صبح تعداد چرخش مربوط به شبانه روز گذشته توسط هر یک از چرخ‌ها یادداشت شد. موش‌های صحرایی گروه‌های ساکن (Sedentary) در قفس‌های مشابهی قرار داشتند، با این تفاوت که به Running Wheel دسترسی نداشتند. پس از پایان ورزش کلیه حیوانات در مدل یادگیری احترازی غیر فعال آموزش داده شدند [۱۶].

روش محاسبه ورزش

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 به طور اتوماتیک توسط دستگاه اندازه‌گیری می‌شد [۱۷].

آزمایش‌ها

آزمایش ۱: هدف این آزمایش بررسی اثر مهار سنتز گلوکوکورتیکوئید (توسط متی‌راپون) بر اثرات مثبت ورزش ارادی بر حافظه ترس و شمارش نورونی هیپوکامپ بود. ۴۰ سر موش به طور تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی آزمایشی تقسیم می‌شوند:

گروه ۱: کنترل (پروپیل گلیکول ۴۰٪ + وهیکل) - غیر ورزشی

گروه ۲: کنترل (پروپیل گلیکول ۴۰٪ + وهیکل) - ورزشی

گروه ۳: متی‌راپون (۵۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان) - غیر ورزشی

گروه ۴: متی‌راپون (۵۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان) - ورزشی

آزمایش ۲: هدف این آزمایش بررسی برداشتن غدد فوق کلیه به تنهایی و همراه با تجویز گورتیکوسترون خوراکی بر اثرات مثبت ورزش ارادی بر یادگیری و حافظه ترس و تعداد نورون‌های هیپوکامپ بود. ۸۰ سر موش به طور تصادفی به ۸ گروه ۱۰ تایی آزمایشی تقسیم شدند:

گروه ۱: شم (فقط جراحی) غیر ورزشی + وهیکل

گروه ۲: شم (فقط جراحی) ورزشی + وهیکل

گروه ۳: شم (فقط جراحی) غیر ورزشی + کورتیکوسترون (۲۰ میکروگرم در یک میلی‌لیتر آب آشامیدنی).

اتوتکنیکون مراحل پردازش نمونه‌های بافتی شامل آبیگری توسط اتانول و گزیلول و آغشته‌سازی توسط پارافین مایع انجام شد. در مرحله بعد قالب‌گیری با پارافین انجام و برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر از ناحیه شکنج دندان‌های هیپوکامپ تهیه و توسط روش H&E (هماتوکسیلین - ائوزین) و روش اختصاصی violet Cresyl fast رنگ‌آمیزی شدند. در هر حیوان تعداد ۵ برش انتخاب و شمارش نورونی در آن‌ها انجام شد. جهت انجام رنگ‌آمیزی اختصاصی نمونه‌ها ابتدا مراحل پارافین‌زدایی و آبدهی برش‌ها انجام و سپس مقاطع در محلول ۵٪ violet Cresyl Fast به مدت ۱۰-۵ دقیقه غوطه‌ور شدند. بعد از شست و شو در آب مقطر، برش‌ها توسط اتانول آبیگری و سپس توسط زایلن شفاف‌سازی انجام شد و در پایان برش‌های بافتی با چسب DPX و لامل پوشانده شدند.

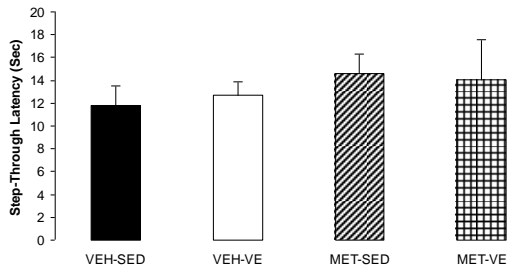
به منظور آنالیز هیستومورفومتری نمونه‌ها، نورون‌های موجود در ناحیه شکنج دندان‌های هیپوکامپ توسط میکروسکوپ نوری مجهز به میکرومتر چشمی صفحه شطرنجی مدرج با ابعاد ۱۰۰*۱۰۰ mm در بزرگ‌نمایی ۴۰۰* (کالیبره شده به وسیله لام نوبار) و سیستم نرم‌افزار آنالیز مورفومتری تصاویر بافتی (Motic Images Analyzer)، شمارش شدند.

آموزش یادگیری احترازی غیر فعال

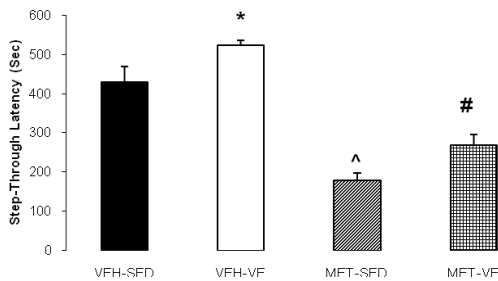
الف- سازش‌یافتن: هر موش ابتدا در قسمت روشن دستگاه پشت به درب قرار داده می‌شد و وقتی که موش به طرف درب می‌چرخید درب باز می‌شد و اجازه داده می‌شد حیوان وارد قسمت تاریک شد. بلافاصله درب بسته می‌شد و حیوان پس از چند ثانیه از قسمت تاریک گرفته و به قفس بازگردانیده می‌شد. این روش برای دو بار دیگر در فواصل ۳۰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

ب- آموزش (اکتساب یادگیری): ۳۰ دقیقه بعد از بار سوم سازش‌یافتن، اکتساب یادگیری انجام می‌شد. به دنبال وارد شدن موش به قسمت تاریک درب بسته شده و شوک الکتریکی با شدت ۱ میلی‌آمپر و به مدت ۳ ثانیه از طریق

حاکمی از وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها (اعداد همه فارسی شوند $F_{3,28}=3/323, P=0/02$) می‌باشد (شکل ۱). آنالیز بعدی نشان داد که ورزش موجب تقویت حافظه شده و متی‌راپون به تنهایی و به همراه ورزش موجب اختلال در به‌خاطرآوری حافظه شده است. به گونه‌ای که تفاوت بین گروه‌های دریافت‌کننده دارو با گروه دریافت‌کننده وهیکل معنی‌دار است ($P<0/01$) (شکل ۲).



شکل ۱. زمان ورود به قسمت تاریک را در طی مرحله آموزش در گروه‌های ورزشی و غیر ورزشی که داروی متی‌راپون دریافت نموده‌اند را نشان می‌دهد. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین را نشان می‌دهد



شکل ۲. اثرات تزریق داخل صفاقی متی‌راپون بر به‌خاطرآوری حافظه در مدل احترازی غیر فعال را در گروه‌های ورزشی و غیر ورزشی نشان می‌دهد. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در طی تست به‌خاطرآوری را نشان می‌دهد. * $P<0.01$ در مقایسه با گروه کنترل غیر ورزشی. ^ $P<0.01$ در مقایسه با گروه کنترل غیر ورزشی. # $P<0.01$ در مقایسه با گروه کنترل ورزشی

آنالیز والرینانس سطح کورتیکوسترون پلاسما در گروه‌های دریافت‌کننده متی‌راپون و وهیکل حاکمی از تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ($F_{3,28}=4/83, P=0/007$). تست توکی نشان داد که میزان غلظت کورتیکوسترون پلاسما در گروه

گروه ۴: شم (فقط جراحی) ورزشی + کورتیکوسترون (۲۰ میکروگرم در یک میلی‌لیتر آب آشامیدنی).

گروه ۵: ADX حذف غدد آدرنال (غیر ورزشی + وهیکل)

گروه ۶: ADX حذف غدد آدرنال (ورزشی + وهیکل)

گروه ۷: ADX حذف غدد آدرنال غیر ورزشی +

کورتیکوسترون (۲۰ میکروگرم در یک میلی‌لیتر آب آشامیدنی).

گروه ۸: ADX حذف غدد آدرنال ورزشی +

کورتیکوسترون (۲۰ میکروگرم در یک میلی‌لیتر آب آشامیدنی)

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون

Smirnov-Kolmogorov بررسی شد و چون توزیع داده‌ها

نرمال بود از آنالیز واریانس یک طرفه و تست بعدی توکی

استفاده شد و ملاک معنی‌داری $P<0/05$ بود.

نتایج

آزمایش ۱. بررسی مهار سنتز گلوکوکورتیکوئید (توسط

متی‌راپون) بر اثرات مثبت ورزش ارادی بر یادگیری و حافظه

ترس و شمارش نورونی هیپوکمپ

یافته‌های زمان آموزش: شکل ۱ اثرات تزریق داخل

صفاقی متی‌راپون را بر زمان ورود به ناحیه تاریک 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

حاکمی 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.

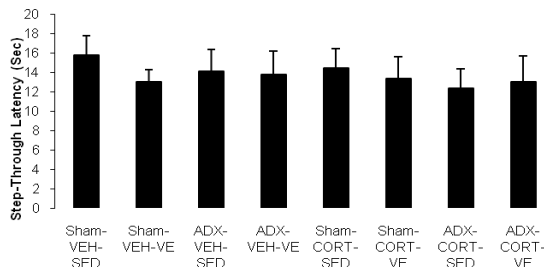
شکل ۲ اثرات تزریق داخل صفاقی متی‌راپون را در

گروه‌های ورزشی و غیر ورزشی بر به‌خاطرآوری حافظه را

نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه زمان صرف شده قبل

از ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی آموزش

شکل ۴ زمان قبل از ورود به ناحیه تاریک در طی دوره آموزش در گروه‌های مختلف 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 نشان‌دهنده همگون بودن گروه‌ها است. ($P=0/8$, $F_{3, 28}=0/323$) می‌باشد (شکل ۴). این یافته

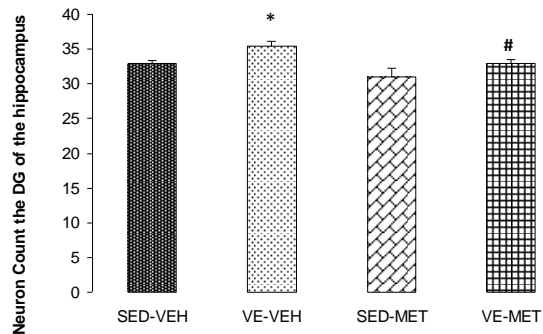


شکل ۴. زمان ورود به قسمت تاریک در طی آموزش در گروه‌هایی که غدد آدرنال آن‌ها خارج شده و کورتیکوسترون خوراکی دریافت نموده‌اند را در گروه‌هایی ورزشی و غیر ورزشی نشان می‌دهد. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین را نشان می‌دهد.

شکل ۵ بررسی نقش سیستم گلوکوکورتیکوئیدی به دنبال برداشتن غدد فوق کلیوی به تنهایی و به همراه تجویز خوراکی کورتیکوسترون بر اثرات مثبت ورزش ارادی بر به‌خاطرآوری حافظه نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه زمان صرف شده قبل از ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی آموزش حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها ($P=0/02$, $F_{3, 28}=3/323$) می‌باشد. آنالیز بعدی نشان داد که ورزش موجب تقویت حافظه شده و برداشتن غدد فوق کلیوی به تنهایی و توأم با ورزش موجب اختلال در به‌خاطرآوری حافظه شده است. به گونه‌ای که تفاوت بین گروه‌های فاقد غدد آدرنال و گروه شم معنی‌دار است ($P<0/01$) (شکل ۵). مصرف کورتیکوسترون، سبب مشاهده اثرات مثبت ورزش در گروه‌های فاقد غده فوق کلیوی گردید.

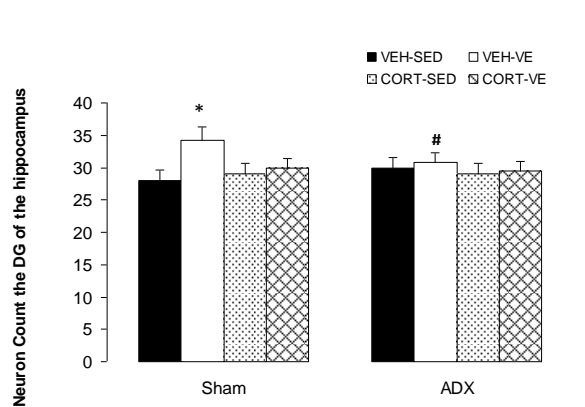
وهیکل ورزشی به‌طور معنی‌داری از گروه وهیکل غیرورزشی بالاتر بود ($P<0/05$). متی‌راپون به‌طور موثری مقادیر کورتیکوسترون پلازما در گروه متی‌راپون ورزشی در مقایسه با وهیکل ورزشی کاهش داد ($P<0/05$). اگرچه که مقادیر کورتیکوسترون پلازما در گروه متی‌راپون غیرورزشی در مقایسه با وهیکل غیرورزشی تفاوت قابل ملاحظه‌ای ندارد. این نتایج نشان می‌دهد که متی‌راپون قادر به تغییر در سطح کورتیکوسترون است اما به صورت قابل توجه از افزایش میزان کورتیکوسترون ناشی از ورزش جلوگیری می‌کند (شکل نمایش داده نشده است).

شکل ۳ تعداد نرون‌های شمارش شده در ناحیه شکنج دندانه‌ای هیپوکمپ را در گروه‌های دریافت‌کننده متی‌راپون و یا وهیکل نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده ورزش با گروه غیر ورزشی می‌باشد ($P<0/04$, $F_{2, 12}=3/33$). این یافته‌ها نشان می‌دهند که ورزش موجب افزایش نرون‌ها می‌شود و تزریق متی‌راپون به‌طور معنی‌داری مانع اثرات مثبت ورزش بر تعداد نرون‌ها در هیپوکمپ می‌گردد ($P<0/05$).



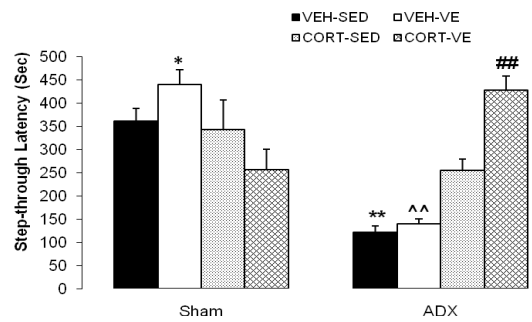
شکل ۳. اثر تزریق متی‌راپون بر شمارش نرونی هیپوکمپ را در گروه‌هایی ورزشی و غیر ورزشی نشان می‌دهد. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین می‌باشد. * $P<0.01$ در مقایسه با گروه کنترل غیر ورزشی. # $P<0.01$ در مقایسه با گروه کنترل ورزشی.

آزمایش ۲: بررسی اثرات برداشتن غدد فوق کلیه به تنهایی و به همراه تجویز کورتیکوسترون خوراکی بر اثرات مثبت ورزش ارادی بر یادگیری و حافظه و تعداد نوروئیدهای هیپوکمپ



شکل ۶. اثر برداشتن غدد فوق کلیه با یا بدون دریافت کورتیکوسترون را بر شمارش نرونی هیپوکمپ را در گروه هایی ورزشی و غیر ورزشی نشان می دهد. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین می باشد. $P < 0.01$ * در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.01$ # در مقایسه با گروه

شم ورزشی



شکل ۵. اثر برداشتن غدد فوق کلیوی به تنهایی و به همراه تجویز خوراکی کورتیکوسترون بر اثرات مثبت ورزش ارادی بر بخاطرآوری حافظه 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 بخاطرآوری را نشان می دهد. $P < 0.01$ ** و $P < 0.01$ * در مقایسه با گروه کنترل

$P < 0.01$ ^ در مقایسه با گروه شم ورزشی

$P < 0.01$ ## در مقایسه با گروه شم کورتیکوسترون

بحث و نتیجه گیری

یافته های اصلی این مطالعه شامل:

- یک دوره ورزش ارادی ۱۰ روزه سبب افزایش حافظه و افزایش تعداد نرون ها در هیپوکمپ گردید.
- هر دو متی راپون و حذف غده فوق کلیوی توانستند اثرات مثبت ورزش را برحافظه ترس و تعداد نرون ها مهار کنند.
این یافته ها نشان می دهد که سیستم گلوکورتیکوئیدی نقش اساسی در افزایش عمل کرد شناختی ناشی از ورزش دارد.

روش کار و دوز داروهای استفاده شده

برای برداشتن غده فوق کلیه، بعد از بی هوش کردن حیوان با کتامین (۷۰ mg/kg) در ناحیه پشتی حیوان برش داده و غده فوق کلیه برداشته شد. ضمن این که جراحی در صبح بین ساعت ۸-۱۳ صورت می گرفت و بعد از جراحی، به منظور حفظ تعادل الکترولیتی نرمال و هیکل ۰/۰۹٪ داخل آب آشامیدنی حیوان ریخته شد. در این آزمایش هر یک از حیوانات گروه ورزش به مدت ۱۰ شبانه روز به یک Running Wheel دسترسی داشتند. پس از پایان ۱۰ شبانه روز مدت آزمایش کلیه حیوانات در دستگاه احترازی غیر

هم چنین ارزیابی سطح کورتیکوسترون پلاسما به دنبال آنالیز واریانس یک طرفه در گروه های فاقد غده کلیه و شم ($F_{3, 28} = 52/5, P < 0/0001$). حاکی از تفاوت معنی دار بین گروه ها می باشد. تست توکی نشان داد که میزان غلظت کورتیکوسترون پلاسما در گروه شم- ورزشی به طور معنی داری از گروه شم- غیرورزشی بالاتر بود ($P < 0/05$). برداشتن غده آدرنال کلیه به طور معنی داری مقادیر کورتیکوسترون پلاسما در گروه فاقد غده آدرنال- ورزشی و فاقد غده آدرنال- غیرورزشی در مقایسه با گروه کاذب- ورزشی و گروه کاذب- غیرورزشی را کاهش داد ($P < 0/01$). (شکل نمایش داده نشده است).

شکل ۶ تعداد نرون های شمارش شده در ناحیه شکنج دندانه ای هیپوکمپ را در گروه های واجد و یا فاقد غدد فوق کلیه را به تنهایی و به همراه تجویز کورتیکوسترون نشان می دهد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از تفاوت معنی دار بین گروه ها می باشد ($F_{3, 12} = 2/93, P < 0/04$). این یافته ها نشان می دهند که که ورزش موجب افزایش نرون ها می شود و برداشتن غدد فوق کلیه به طور معنی داری اثرات مثبت ورزش را بر تعداد نرون ها در هیپوکمپ تعدیل می کند ($P < 0/05$).

فعال آموزش داده شدند و حافظه آن‌ها ۴۸ ساعت بعد ارزیابی شد نتایج نشان داد، که زمان نهفته قبل از اولین ورود در گروه‌هایی که غدد آدرنال آن‌ها برداشته شده بود کاهش یافت، که حاکی از اختلال حافظه است.

داروی مورد استفاده در این آزمایش متی‌راپون با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن در ۲ میلی‌لیتر در طی ۱۰ روز ورزش متوالی در ساعت ۶ بعدازظهر هر روز تزریق شد. مطالعه قبلی موثر بودن دوز فوق را ثابت کرده بود. این دارو مهارگر سنتز گلوکوکورتیکوئید (از طریق مهار آنزیم ۱۱α هیدروکسیلاز) است و هیچ گونه اثری بر روی مقادیر پایه کورتیکواسترون ندارد ولی باعث مهار افزایش کورتیکواسترون به دنبال استرس می‌شود [۱۸].

به منظور ایجاد اثرات ورزش کوتاه‌مدت بر روی عمل‌کردهای شناختی، حیوان باید حداقل ۱۰۰ متر در هر شب بدود [۱۹]. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد، که هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین گروه در زمینه فعالیت دویدن در مدت ۱۰ روز وجود ندارد و میانگین مسافت طی شده در گروه حلال ورزشی و متی‌راپون ورزشی و کاذب ورزشی و فاقد غده (ADX) ورزشی با هم تفاوتی نداشت. معمولاً سرعت دویدن در ابتدا آهسته و سپس به تدریج در طی ۱۰ روز افزایش می‌یابد. یافته این تحقیق با مطالعات قبلی که نشان می‌داد، دویدن ارادی به‌طور خودبه‌خودی شروع شده و با گذشت زمان با تجربه میزان آن افزایش می‌یابد، هم‌خوانی دارد. دویدن ارادی بر خلاف رفتار اکتشافی به صورت عادت در نمی‌آید [۲۰]. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد، که افزایش یافتن سرعت دویدن در گروه متی‌راپون و ADX نسبت به گروه کنترل خودشان آهسته‌تر بوده و این نشان‌دهنده این است که متی‌راپون و ADX باعث کاهش فعالیت‌های اکتشافی و دویدن ارادی شده [۲۱] و یک ارتباط مستقیمی بین میزان کورتیکواسترون و فعالیت ارادی وجود دارد.

نتایج این تحقیق ثابت می‌کند، که ورزش ارادی به مدت ۱۰ روز باعث افزایش مقادیر کورتیکواسترون خون می‌شود، که مقادیر آن بلافاصله بعد از اتمام دوره ورزشی اندازه‌گیری شد.

این یافته‌ها با نتایج مطالعات قبلی مبنی بر این‌که مقادیر کورتیکواسترون در طی دویدن ارادی در جوندگان [۲۲] و انسان‌ها [۲۳] افزایش می‌یابد هم‌خوانی دارد. مکانیسم‌های اصلی که باعث فعال شدن محور HPA به دنبال دویدن ارادی می‌شود، ناشناخته است ولی ممکن است، به علت افزایش در نیازهای متابولیکی و فعال شدن مکانیسم‌های مرکزی باشد [۲۴].

متی‌راپون افزایش یادگیری و حافظه و تعداد نرون‌های هیپوکمپ را به دنبال ورزش مهار می‌کند.

در اولین آزمایش ما نشان دادیم، که متی‌راپون باعث مهار افزایش یادگیری و حافظه و افزایش میزان کورتیکواسترون به دنبال ورزش می‌شود. این یافته با مطالعات قبلی مبنی بر این‌که متی‌راپون هیچ‌گونه اثری بر روی مقادیر پایه کورتیکواسترون ندارد، ولی افزایش آن به دنبال ورزش با این دارو مهار می‌شود، هم‌خوانی دارد [۲۵]. نتایج ما نشان می‌دهد، که آزاد شدن گلوکوکورتیکوئیدها در طی ورزش اثرات افزایش حافظه و یادگیری را واسطه‌گری می‌کند. اعمال بیولوژیکی گلوکوکورتیکوئیدها از طریق دو نوع رسپتور اعمال می‌شود، که شامل GR و MR است. GR میل ترکیبی کم‌تری برای کورتیکواسترون داشته و در هنگام استرس و اوج غلظت سیرکادین کورتیکواسترون اشغال می‌شود. میل ترکیبی MR، ۱۰ برابر GR و در غلظت‌های پایه اشغال می‌شود بنابراین در مقادیر پایه اغلب MR اشغال می‌شود. در غلظت‌های بالای کورتیکواسترون، که در شرایطی مثل استرس و فعالیت فیزیکی ایجاد می‌شود، گیرنده GR فعال می‌شود [۲۶]. نتایج این تحقیق نشان داد، که در گروه کنترل افزایش متوسط (۲۰٪) در غلظت کورتیکواسترون به دنبال ورزش ایجاد می‌شود و در این وضعیت هر دو نوع گیرنده GR و MR فعال می‌شود. علاوه بر تحریک تولید کورتیکواسترون، ورزش ارادی باعث تغییر در بیان و میل ترکیبی گیرنده‌های کورتیکواسترون می‌شود. در mice دویدن بدون تغییر تعداد گیرنده‌ها، سبب کاهش میل ترکیبی گیرنده‌های MR هیپوکمپ می‌شود. در رت، ورزش ارادی سبب افزایش تعداد گیرنده‌های GR

شدن فرایند اکتساب و فراخوانی حافظه می‌شود، این نتایج با مطالعات قبلی که نشان می‌دهد، ADX سبب نقص یادگیری و حافظه می‌شود، همخوانی دارد [۳۱] اثرات مختل‌کنندگی ADX بر روی یادگیری و حافظه به علت کاهش هورمون‌های بخش قشری فوق کلیه و نه بخاطر کاهش هورمون‌های بخش مرکزی است [۲۸]. با این وجود، به نظر می‌رسد که اثرات مهارى ADX بر روی یادگیری و حافظه به دنبال ورزش نه تنها به علت کاهش هورمون‌های بخش قشری بلکه به خاطر کاهش هورمون‌های بخش مرکزی نیز هست. در واقع در کنار گلوکوکورتیکوئیدها، غدد فوق کلیه، کاتهکولآمین‌ها را نیز آزاد می‌کند، که نقش مهمی در واسطه‌گری اثرات مثبت ورزش بر روی یادگیری و حافظه دارد [۳۲، ۳۳]. کاملاً ثابت شده است، که سیستم نروترنسمیتری نورآدرنژیک نقش مهمی در انواع مختلفی از یادگیری و حافظه در انسان و رت دارند [۳۴، ۳۵]. بنابراین، علاوه بر نقش گلوکوکورتیکوئیدها، حذف کاتهکولآمین‌ها داخلی به دنبال ADX نیز در مهار اثرات مثبت ورزش بر روی عمل‌کردهای شناختی نقش دارد.

مطالعات زیادی نشان می‌دهد، که گلوکوکورتیکوئیدها نقش اساسی در فرایند تثبیت یادگیری فضایی ماز آبی دارد و متی‌راپون و ADX باعث مهار این فرایند می‌شوند [۳۶]. بنابراین، برای نشان دادن این که افزایش گلوکوکورتیکوئیدها به دنبال ورزش باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌شود، این نکته اهمیت دارد که دست‌کاری‌ها (متی‌راپون و ADX) به‌طور مستقیم اثری بر روی تثبیت نداشته باشد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد، که ADX به تنهایی باعث مختل شدن یادگیری و حافظه می‌شود. این یافته نشان‌دهنده این است، که موش‌های فاقد غده فوق کلیه، صرف نظر از سابقه ورزش، قادر به تثبیت حافظه فضایی نیستند. دو نتیجه تا حدودی این مشکل را حل می‌کند: ۱- موش‌های فاقد غده فوق کلیه غیرورزشی گرایش قابل ملاحظه‌ای برای ربع هدف، هر چند به میزان کم‌تر از رت‌های کاذب، در طی تست به‌خاطر آوری داشتند و این نشان‌دهنده این است، که این رت‌ها هنوز قادر به تثبیت حافظه فضایی هستند. ۲- متی‌راپون به تنهایی اثر کمی بر روی

می‌شود، بدون این‌که میزان رسپتور MR تغییری بکند [۲۷]. بنابراین، افزایش کورتیکوسترون به دنبال فعالیت فیزیکی عمدتاً از طریق فعال کردن رسپتورهای GR روی یادگیری و حافظه اثر می‌گذارد. با این وجود، نقش‌های احتمالی MR در اثرات ورزش به دنبال ورزش بر روی جنبه‌هایی از اعمال شناختی نمی‌توان نادیده گرفت. در واقع رسپتورهای کورتیکواستروئیدها نقش‌های متفاوتی در رفتارهای شناختی دارد. گیرنده‌های GR در اکتساب و هم‌چنین تثبیت اطلاعات کسب شده نقش دارد، در حالی که MR برای تفسیر محرک محیطی و در انتخاب پاسخ رفتاری درست نقش ضروری دارد [۲۸].

به نظر می‌رسد، کاهش کورتیکوسترون و بنابراین کاهش اتصال آن به گیرنده GR، مهم‌ترین مکانیسمی است، که از طریق آن متی‌راپون اثرات فعالیت فیزیکی بر روی یادگیری و حافظه را مهار می‌کند. تفسیر دیگر برای نتایج رفتاری مشاهده شده، این است که این اثرات ممکن از طریق مهار کورتیکوسترون نباشد، چون متی‌راپون نه تنها باعث مهار سنتز کورتیکوسترون می‌شود، بلکه به علت کاهش اثرات فیدبک منفی، به صورت وابسته به دوز باعث افزایش ACTH می‌شود [۲۹]. متی‌راپون هم‌چنین باعث تحریک آزاد شدن داکسی‌کورتیکوسترون می‌شود [۳۰]. این ترکیب پیش‌ساز چندین نورواستروئید است، که ممکن است در اثرات رفتاری مشاهده نقش داشته باشند. بنابراین احتمال این‌که متی‌راپون از طریق مکانیسمی غیر از مهار کورتیکوسترون عمل کند، را نمی‌توان نادیده گرفت.

ADX اثرات مثبت ورزش بر روی یادگیری و حافظه و

تعداد نرونها در هیپوکمپ را مهار می‌کند.

در آزمایش اول ما نشان دادیم، که متی‌راپون اثرات مثبت ورزش بر یادگیری و حافظه را مهار می‌کند. این یافته نشان‌دهنده نقش گلوکوکورتیکوئیدها در اثرات ورزش است. این نتیجه‌گیری با نتایج آزمایش ۲ مبنی بر اثر مهارى ADX بر اثرات مثبت ورزش بر روی عمل‌کردهای شناختی تأیید می‌شود. نتایج آزمایش ۲ نشان داد، که ADX باعث مختل

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: 955-961.

[4] Ottawa M, Arai H, Atomi Y. Molecular aspects of adrenal regulation for circadian glucocorticoid synthesis by chronic voluntary exercise. *Life Sci* 2007; 80: 725-731.

[5] Coleman MA, Garland T, Marler CA, Newton SS, Swallow JG, Carter PA. Glucocorticoid response to forced exercise in laboratory house mice (*Mus domesticus*). *Physiol Behav* 1998; 63: 279-285.

[6] Mokhtari-Zaer A, Ghodrati-Jaldbakhan S, Vafaei AA, Miladi-Gorji H, Akhavan MM, Bandegi AR, Rashidy-Pour A. Effects of voluntary and treadmill exercise on spontaneous withdrawal signs, cognitive deficits and alterations in apoptosis-associated proteins in morphine-dependent rats. *Behavioural Brain Research* 271 (2014) 160-170.

[7] 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.

[8] 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).

[9] Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 1997; 386: 493-495.

[10] 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.

[11] Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Taherian AA. Peripheral injection of dexamethasone modulates anxiety related behaviors in mice: an interaction with opioidergic neurons. *Pak J Pharm Sci* 2008; 21: 285-289.

[12] Lupien SJ, Fiocco A, Wan N, Maheu F, Lord C, Schramek T, Tu MT. Stress hormones and human memory function across the lifespan. *Psychoneuroendocrinology* 2005; 30: 225-242.

[13] De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joëls M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 1998; 19: 269-301.

[14] Zalachoras I, Houtman R, Atucha E, Devos R, Tijssen AM, Hu P, et al. Differential targeting of brain stress circuits with a selective glucocorticoid receptor modulator. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 7910-7915.

[15] Roozendaal B, Griffith QK, Buranday J, De Quervain DJ, McGaugh JL. The hippocampus mediates glucocorticoid-induced impairment of spatial memory retrieval: dependence on the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 1328-1333.

[16] Ebrahimi S, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Akhavan MM, Haghghi S. Influence of basolateral amygdala lesion on the inhibitory effects of propranolol on voluntary exercise-induced enhancement of learning and memory. *Koomesh* 2010; 11: 145-153. (Persian).

[17] 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.

[18] Akirav I, Kozenicky M, Tal D, Sandi C, Venero C, Richter-Levin G. A facilitative role for corticosterone in the acquisition of a spatial task under moderate stress. *Learn Mem* 2004; 11: 188-195.

کورتیکوسترون خون داشت و یادگیری و حافظه فضایی را مختل نکرد، ولی اثرات ورزش را بر روی افزایش کورتیکوسترون و فعالیت‌های شناختی مهار کرد. بنابراین، روشن است که هر دو متی‌راپون و ADX به طور اختصاصی اثرات ورزش را مهار کرده‌اند.

نهایتاً، یافته‌های ما نشان داد، که ورزش موجب افزایش تعداد نرون‌ها در ناحیه شکنج دندان‌های هیپوکمپ می‌گردد. از طرفی متی‌راپون و ADX به تنهایی قادر نیستند، که تعداد نرون‌های ناحیه هیپوکمپ را تغییر دهند. شاید دلیل اصلی آن به مدت زمان و دوره مطالعه بر می‌گردد ولی آن‌ها توانستند اثرات مثبت ورزش را مهار نمایند. با این وجود، این قسمت موضوع باید در مطالعات آتی بیش‌تر مورد توجه قرار گیرد. به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد، که متی‌راپون و برداشتن غده فوق کلیه اثرات مثبت ورزش بر یادگیری و حافظه و تعداد نرون‌ها در هیپوکمپ را بلوک می‌کنند. این یافته‌ها نشان می‌دهند، که سیستم گلوکوکورتیکوئیدی نقش مهمی در وساطت اثرات مفید ورزش ارادی بر روی عمل‌کردهای شناختی دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه خانم راضیه حاجی سلطانی که در جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد فیزیولوژی طراحی شده بود 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] van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. *Trends Neurosci* 2009; 32: 283-290.
- [2] 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.
- [3] Akhavan MM, Miladi-Gorji H, Emami-Abarghoie M, Safari M, Sadighi-Moghaddam B, Vafaei AA, Rashidy-Pour A. Maternal voluntary exercise during pregnancy

- [29] Rotllant D, Ons S, Carrasco J, Armario A. Evidence that metyrapone can act as a stressor: effect on pituitary adrenal hormones, plasma glucose and brain c-fos induction. *Eur J Neurosci* 2002; 16: 693-700.
- [30] Strashimirov D, Bohus B. Effect of 2-methyl-1, 2-bis-/3-pyridyl/-1-propanone (SU-4885) on adrenocortical secretion in normal and hypophysectomized rats. *Steroids* 1966; 7: 171-180.
- [31] Roozendaal B, Sapolsky RM, McGaugh JL. Basolateral amygdala lesions block the disruptive effects of long-term adrenalectomy on spatial memory. *Neuroscience* 1998; 84: 453-465.
- [32] Ebrahimi S, Rashidy-Pour A, Vafaei Aa, Akhavan MM. Central beta-adrenergic receptors play an important role in the enhancing effect of voluntary exercise on learning and memory in rat. *Behav Brain Res* 2010; 208: 189-193.
- [33] 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.
- [34] Vafaei AA, Rashidy-Pour A. The role of basolateral amygdala adrenergic receptors in hippocampus dependent spatial memory in rat. *DARU J Facul Pharm* 2008; 16: 18-22. (Persian).
- [35] Cahill L, Alkire MT. Epinephrine enhancement of human memory consolidation: interaction with arousal at encoding. *Neurobiol Learn Mem* 2003; 79: 194-198.
- [36] Hajisoltani R, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Ghaderdoost B, Bandegi AR, Motamedi F. The glucocorticoid system is required for the voluntary exercise-induced enhancement of learning and memory in rats. *Behav Brain Res* 2011; 219: 75-81.
- [19] Akhavan MM, Emami-Abarghoie M, Safari M, Sadighi-Moghaddam B, Vafaei AA, Bandegi AR, Rashidy-Pour A. Serotonergic and noradrenergic lesions suppress the enhancing effect of maternal exercise during pregnancy on learning and memory in rat pups. *Neuroscience* 2008; 151: 1173-1183.
- [20] Cosgrove KP, Hunter RG, Carroll ME. Wheel-running attenuates intravenous cocaine self-administration in rats: sex differences. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 73: 663-671.
- [21] Canini F, Brahimi S, Drouet JB, Michel V, Alonso A, Buguet A, Cespuglio R. Metyrapone decreases locomotion acutely. *Neurosci Lett* 2009; 457: 41-44.
- [22] Girard I, Garland T. Plasma corticosterone response to acute and chronic voluntary exercise in female house mice. *J Appl Physiol* 2002; 92: 1553-1561.
- [23] de Vries WR, Bernards NT, de Rooij MH, Koppeschaar HP. Dynamic exercise discloses different time-related responses in stress hormones. *Psychosom Med* 2000; 62: 866-872.
- [24] Stranahan AM, Lee K, Mattson MP. Central mechanisms of HPA axis regulation by voluntary exercise. *Neuromolecular Med* 2008; 10: 118-127.
- [25] Roozendaal B, Bohus B, McGaugh JL. Dose-dependent suppression of adrenocortical activity with metyrapone: effects on emotion and memory. *Psychoneuroendocrinology* 1996; 21: 681-693.
- [26] Reul JM, de Kloet ER. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 1985; 117: 2505-2511.
- [27] Droste SK. Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology* 2003; 144: 3012-3023.
- [28] Oitzl MS, de Kloet ER. Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behav Neurosci* 1992; 106: 62-71.

Adrenalectomy and glucocorticoid inhibition prevent the beneficial effects of voluntary exercise on fear memory and hippocampal neural counting in rats

Abbas Ali Vafaei (Ph.D)¹, Ali Rashidy-Pour (Ph.D)^{*1}, Razieh Hajisoltani (M.Sc)¹, Hamid Reza Sameni (Ph.D)

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: 18 Sep 2016; Accepted: 23 Apr 2017)

Introduction: Several evidences demonstrate the beneficial effects of voluntary exercise on cognitive functions in rodents. It is well established that the glucocorticoid system plays an important role in regulation of learning and memory. In previous study, we have shown that glucocorticoids are involved in mediating the effect of voluntary exercise on spatial learning and memory. Moreover, physical activity enhances glucocorticoids. This study addressed whether the glucocorticoid system would play a role in the exercise-induced enhancement of fear memory and hippocampal neuronal numbers in rats.

Materials and Methods: Rats that were either adrenalectomized or daily given the corticosterone-synthesis inhibitor metyrapone were allowed to freely exercise in a running wheel for 10 days. After this period, they were trained and tested on a passive avoidance task, succeeded by a retention test two days later. Immediately after memory testing, the rats were decapitated, and their hippocampi were removed for the measurement of the neuron counting in the dentate gyrus.

Results: Exercise significantly improved the performance of fear memory retrieval and increased neuronal number in hippocampus whereas this effect was absent in both adrenalectomized and metyrapone-treated rats.

Conclusion: These findings indicate that the glucocorticoids play a crucial role in the beneficial effects of voluntary exercise on fear memory formation and neural counting in the hippocampus.

Keywords: Exercise, Memory Retrieval, Glucocorticoid system, Adrenalectomy, Metyrapone

* Corresponding author. Tel: +98 9121140221

rashidy-pour@semums.ac.ir