

اثرات تخریب هسته قاعده‌ای - جانبی آمیگدال بر مهار افزایش یادگیری و حافظه ناشی از ورزش ارادی توسط پروپرانولول

شیمای ابراهیمی^۱ (M.Sc)، علی رشیدی پور^{۱*} (Ph.D)، عباس علی وفایی^۱ (Ph.D)، مازیار محمدآخوان^۲ (Ph.D)، سعید حقیقی^۳ (M.Sc)

- ۱ - دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی، آزمایشگاه حافظه و یادگیری
۲ - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، بیمارستان شهدای تجریش، مرکز تحقیقات پوست، آزمایشگاه پروتئین و آنزیم
۳ - دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، گروه بافت‌شناسی

چکیده

سابقه و هدف: اثرات مثبت فعالیت‌های فیزیکی و ورزش بر رفتارهای مغزی مانند بهبود حافظه و یادگیری ثابت شده است. در یک مطالعه اخیر، ما مشاهده کردیم که پروپرانولول قادر است اثرات مثبت ورزش ارادی بر یادگیری و حافظه را مهار نماید ولی جایگاه عمل آن روشن نیست. هدف این مطالعه، بررسی نقش هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر اثرات مهار پروپرانولول بر بهبود حافظه و یادگیری ناشی از ورزش اختیاری است. مواد و روش‌ها: در موش‌های نر بالغ، هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال با جریان الکتریکی مستقیم (۲ میلی آمپر به مدت ۲ ثانیه) تخریب شد. مدت ورزش ارادی پنج روز بود. برای مهار گیرنده‌های بتاآدرنرژیک، هر روز و برای مدت پنج روز ساعت ۶ بعدازظهر به موش‌ها پروپرانولول (۱۰ mg/kg) تزریق می‌شد. سپس موش‌ها برای ۵ روز متوالی و هر روز ۲ بار در ماز آبی موریس آموزش دیدند. تست حافظه ۲ روز بعد از آخرین بار آموزش انجام شد. یافته‌ها: یافته‌ها نشان می‌دهند که پروپرانولول اثرات مثبت ورزش را بر حافظه و یادگیری مهار می‌کند. همچنین، تخریب الکتریکی هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال اثرات مهار پروپرانولول را بر بهبود حافظه و یادگیری ناشی از ورزش تغییر نداد. با این حال تخریب هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال به تنهایی بهبود حافظه و یادگیری ناشی از ورزش را تضعیف می‌کند. نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهند که احتمالاً گیرنده‌های بتاآدرنرژیک واقع شده در خارج هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال، اثرات ورزش را بر حافظه و یادگیری وساطت می‌کنند. همچنین هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال نقش مهمی در وساطت اثرات فعالیت‌های فیزیکی بر حافظه و یادگیری بازی می‌کند.

واژه‌های کلیدی: ورزش، سیستم بتاآدرنرژیک، هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال، ماز آبی موریس، حافظه فضایی

مقدمه

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که ورزش ارادی سبب افزایش حافظه و یادگیری می‌شود. ورزش از طریق افزایش نورونزایی در هیپوکمپ و افزایش

[Brain derived neurotrophic factor (BDNF)] باعث تسهیل حافظه و یادگیری می‌شود [۱،۲]. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که افزایش LTP، نورونزایی در هیپوکمپ، افزایش سیناپس‌ها و تراکم عروق خونی در مغز به دنبال ورزش ارادی و مداوم به وجود می‌آیند [۳]. هر چند در طی ورزش حافظه

افزایش می‌یابد ولی عواملی که فعالیت ورزشی را با افزایش حافظه مرتبط می‌سازند ناشناخته مانده‌اند.

مطالعات قبلی نشان داده که سیستم نورآدرنژیک نقش مهمی در یادگیری و حافظه بازی می‌کند. تزریق محیطی ابی‌نفرین بعد از آموزش منجر به افزایش وابسته به دوز ذخیره حافظه در مدل یادگیری احترازی غیرفعال می‌شود. یک مسیر نورونی محیطی-مرکزی این اثرات ابی‌نفرین را بر تثبیت حافظه وساطت می‌کند. نورابی‌نفرین گیرنده‌های بتاآدرنژیک روی تارهای عصبی واگ که به نورون‌های آدرنژیک هسته [Nucleus of Salivary Tract (NTS)] ختم می‌شود را فعال می‌کند. تحریک الکتریکی فیبرهای صعودی واگ بعد از آموزش مانند ابی‌نفرین منجر به افزایش حافظه می‌شود و مهار موقتی NTS با تزریق موضعی لیدوکائین، اثرات ابی‌نفرین را بر فاز اکتساب مهار می‌کند، در صورتی که آگونیست‌های بتاآدرنژیک باعث افزایش وابسته به دوز حافظه می‌شوند [۴].

نورون‌های آدرنژیک این مسیر به طور مستقیم با آمیگدال در تماس هستند. مسیر غیر مستقیمی نیز وجود دارد که در آن نورون‌های آدرنژیک مسیر NTS توسط لوکوس سرولوس با هسته‌های مغزی و در نهایت با آمیگدال ارتباط دارند [۵]. یافته‌های فوق نشان می‌دهند که گیرنده‌های بتاآدرنژیک نقش مهمی در وساطت اثرات نورابی‌نفرین بر حافظه بازی می‌کند و با توجه به افزایش ترشح ابی‌نفرین در طی ورزش و اثرات مثبت آن بر حافظه [۶]، احتمالاً سیستم آدرنژیک نقش مهمی در وساطت اثرات ورزش بر یادگیری و حافظه دارد. در یک مطالعه اخیر، ما مشاهده کردیم که تزریق محیطی پروپرانولول (یک بلوکر گیرنده‌های بتاآدرنژیک) قادر است اثرات مثبت ورزش بر یادگیری و حافظه را مهار نماید ولی نادولول (یک بلوکر محیطی گیرنده‌های بتا آدرنژیک) چنین توانایی را ندارد [۷]. این یافته نشان می‌دهد که گیرنده‌های مرکزی بتاآدرنژیک نقش مهمی در وساطت اثرات مثبت ورزش بر یادگیری و حافظه دارد. با این وجود، مکان یا مکان‌های اثر این دارو مشخص نیست.

از طرفی بررسی‌های آسیب‌شناسی، الکتروفیزیولوژی، فارماکولوژی و تصویربرداری نشان می‌دهد هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال نقش مهمی در اکتساب و تثبیت یادگیری و حافظه دارد [۸،۹]. این هسته نقش مهمی در وساطت اثرات ترکیبات شیمیایی و هورمون‌های محیطی از قبیل گلوکوکورتیکوئیدها و کاتکول‌آمین‌ها (اپی‌نفرین و نورابی‌نفرین) بر یادگیری و حافظه دارد [۱۰،۱۱]. این هسته به عنوان یک ساختار جمع‌بندی‌کننده عوامل عصبی-هورمونی بر حافظه عمل می‌کند [۱۲]. با توجه به یافته‌های فوق، احتمال دارد که هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال در وساطت اثرات مهاری پروپرانولول بر افزایش یادگیری و حافظه توسط ورزش نقش داشته باشد. از این رو، هدف این مطالعه، تعیین نقش هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال در اثرات بلوک گیرنده‌های بتاآدرنژیک بر بهبود حافظه و یادگیری ناشی از ورزش بوده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی نر (Rat) بالغ از نژاد Wistar به وزن ۱۷۰-۱۹۰ گرمی که همگی در حیوان‌خانه گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان پرورش داده شده بودند به صورت اتفاقی انتخاب و در گروه‌های حداقل ده‌تایی تقسیم شدند. در طول آزمایش‌ها تمام موش‌ها به صورت جداگانه به مدت پنج شبانه‌روز 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 و روش تزریق: پروپرانولول (تهیه شده از شرکت سیگما)، با دوز ۱۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم داخل صفاقی تزریق شد. مطالعات قبلی مؤثر بودن دوز فوق را نشان داده بود [۱۳]. گروه کنترل روزانه سرم فیزیولوژیک (۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) دریافت کردند. تزریق‌ها در طی پنج

روز ورزش متوالی در ساعت ۶ بعد از ظهر هر روز انجام می‌گرفت.

روش ورزش ارادی: هر یک از حیوانات گروه ورزش به مدت پنج شبانه‌روز به یک چرخ (Running Wheel) با ابعاد ۳۴/۵ در ۹/۵ سانتی‌متری دسترسی داشتند. چرخ 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 شبانه‌روز گذشته توسط هر یک از چرخ‌ها یادداشت شد. موش‌های گروه‌های غیرورزشی (Sedentary) در قفس‌های مشابهی قرار داشتند با این تفاوت که به چرخ دسترسی نداشتند. پس از پایان ورزش ارادی تمام موش‌ها به مدت هفت روز در آزمون ماز آبی موريس مورد مطالعه قرار گرفتند. میزان مسافت دویده شده توسط هر موش از فرمول زیر محاسبه شد:

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

مسافت دویده شده (m) = $(2 \times 3.14 \times 0.175) \times$ تعداد دورهای ثبت شده.

تست یادگیری و حافظه فضایی

دستگاه ماز آبی موريس: ماز آبی یک مخزن فلزی حلقوی با دیواره مشکی (با ۱۴۰ سانتی‌متر قطر و ۵۵ سانتی‌متر ارتفاع) است که تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متری از آب 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد پر شد. یک سکوی پلگسی‌گلاس روشن (با قطر ۱۱ سانتی‌متر) ۱ سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز یکی از چهار ربع شمال‌شرقی، جنوب‌شرقی، شمال‌غربی، جنوب‌غربی قرار داده شد. این سکو توسط یک پایه روی کف مخزن نگهداری می‌شد. سکوی فوق فقط وسیله‌ای برای فرار حیوان از آب بود. اتفاقی که ماز در آن قرار داشت حاوی اجسام و علامت‌های اضافی تعبیه شده از قبیل بوستر و قفسه و پنجره بود. حرکت و رفتار حیوان به وسیله یک دوربین تلویزیونی مادون قرمز که در ارتفاع دو متری بالای ناحیه مرکزی مخزن قرار گرفته ردیابی و تشخیص داده شده و کنترل

می‌شد. سیگنال تلویزیونی دیجیتال وارد یک سیستم ردیاب کامپیوتری شده (EthoVision, Version 3.1, The Netherlands) که حرکت موش را هر ۱۰۰ میلی‌ثانیه ارزیابی و ذخیره می‌کند از این رو امکان ثبت دقیق مسیر شنای موش در هر بار آموزش فراهم می‌شد و از روی آن متغیرهای زیر پایه‌گذاری گردید:

۱- مدتی که طول می‌کشید تا حیوان سکوی پلگسی گلاس را پیدا کند.

۲- طول مسافت کل مسیر شنای موش در هر بار آموزش.

۳- درصد زمانی که حیوان در هر ربع مخزن گذرانده بود.

۴- سرعت حرکت موش.

روش بررسی حافظه فضایی. الف- عادت دادن: به منظور عادت کردن به ماز، ۲۴ ساعت قبل از آموزش، موش‌ها به مدت سه دقیقه در مخزن فاقد صفحه پلگسی‌گلاس شنا کردند.

ب- آموزش: در این مرحله، موش‌ها روزانه دو بار به مدت ۵ روز جهت یافتن سکویی که در وسط یک ربع مخزن وجود دارد تحت آموزش قرار گرفتند. در هر بار آموزش موش به طور تصادفی از یکی از چهار نقطه اصلی مخزن (شمال، جنوب، شرق، غرب) به داخل آب رها شد. سپس موش شنا کرده تا سکوی پلگسی‌گلاس زیر آب را پیدا کند و روی آن قرار گیرد. پس از پیدا کردن سکو به موش اجازه داده می‌شد که به مدت ۳۰ ثانیه روی آن باقی بماند. در صورتی که موش قادر به پیدا کردن سکو در مدت ۶۰ ثانیه نبود با دست به طرف آن هدایت می‌شد. مدت زمان پیدا کردن سکو و مسافت کل طی شده در هر بار آموزش اندازه‌گیری گردید. پس از آخرین بار آموزش حیوان از حوضچه خارج و با حوله خشک گشته و به قفس خود بازگردانده می‌شد.

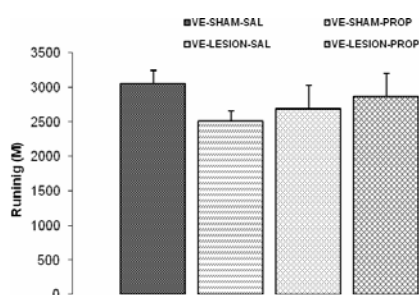
ج- تست به خاطر‌آوری: یک روز بعد از آخرین آموزش، حافظه فضایی حیوانات مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. در این مرحله موش‌ها در یک آزمون ۶۰ ثانیه‌ای که در طی آن سکو از داخل آب برداشته شده بود مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند و مدت زمانی که طول می‌کشید تا موش برای اولین بار از سکو

گروه ۷: تخریب + پروپرانولول + ورزش.
گروه ۸: تخریب + پروپرانولول + بدون ورزش.

نتایج

۱- میزان دویدن موش‌های ورزشی. شکل ۱ میزان کل دویدن موش‌ها را در طی ۵ روز نشان می‌دهد. آزمون آماری نشان می‌دهد که میزان کل دویدن موش‌ها در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌ها ندارد ($P=0/5$).

($F_{3,36}=0/73$)



شکل ۱. مقایسه میزان کل دویدن گروه‌های آزمایشی مختلف. VE-SHAM-SAL: گروه تخریب کاذب (شم) + سالین + ورزش اختیاری، VE-SHAM-PROP: گروه تخریب کاذب (شم) + پروپرانول + ورزش اختیاری، VE-LESION-SAL: گروه تخریب + سالین + ورزش، VE-LESION-PROP: گروه تخریب + پروپرانول + ورزش

۲- روند یادگیری: زمان رسیدن به سکو. شکل ۲ روند یادگیری فضایی گروه‌های مختلف را در طی ۵ روز آموزش نشان می‌دهد. آنالیز واریانس دو طرفه (گروه × روز) زمان رسیدن به سکو حاکی از اثرات معنی‌دار گروه‌ها ($P<0/0001$), ($F_{4,72}=13/07$) و روزها ($P<0/0001$, $F_{4,72}=101/337$) است. مقایسه بین گروه‌ها نشان داد که زمان رسیدن به سکو در گروه تخریب کاذب + ورزش + سالین به‌طور معنی‌داری در روزهای ۴ و ۵ نسبت به سایر گروه‌ها و گروه تخریب کاذب + ورزش + پروپرانولول کم‌تر بود ($P<0/01$) برای هر مورد).

عبور کند، سرعت شنا کردن، و زمان گذرانده شده در یک ناحیه با شعاع ۲۰ سانتی در ربع هدف و ناحیه معادل آن در ربع مخالف اندازه‌گیری گردید.

روش تخریب هسته قاعده‌ای جانبی آمیگدال. بعد از بی‌هوش کردن رت‌ها با کتامین (۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) حیوان روی دستگاه استریوتاکس قرار داده شد و با استناد به اطلس پاکسینوس و واتسون مختصات هسته آمیگدال را مشخص کردیم (قدامی-خلفی ۳/۱۴ میلی‌متر، جانبی ۴/۸ میلی‌متر و عمودی ۸/۴ میلی‌متر). سپس الکتروود فلزی که فقط نوک آن عایق نبود روی هسته قاعده‌ای جانبی آمیگدال قرار داده شد. سپس جریان الکتریکی به میزان ۲ میلی‌آمپر و به مدت ۲ ثانیه اعمال شد. در مورد حیوانات گروه شم نیز مراحل فوق انجام شد ولی تخریب صورت نگرفت. بعد از تخریب، موش‌ها به مدت یک هفته دوره بهبودی را طی نمودند و سپس آزمایش‌های مربوطه شروع شد.

روش بافت‌شناسی. پس از انجام آزمایش‌ها مغز موش‌ها خارج و در فرمالین ۴ درصد قرار داده شد تا فیکس گردد. سپس مقاطع ۵ میکرونی تهیه و با روش H & E رنگ‌آمیزی گردید و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰× محل ضایعه بررسی و با اطلس مقایسه شد. در مواردی که محل ضایعه در BLA نبود اطلاعات آن حیوان حذف و جای‌گزینی صورت گرفت.

گروه‌های آزمایش. برای بررسی نقش هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر اثرات مهارتی بلوک گیرنده‌های مرکزی بتاآدرنرژیک در بهبود یادگیری و حافظه توسط ورزش، ۸۰ موش (۱۰ موش برای هر گروه) انتخاب و به هشت گروه زیر تقسیم گردید:

گروه ۱: کاذب (شم) + سالین + ورزش.

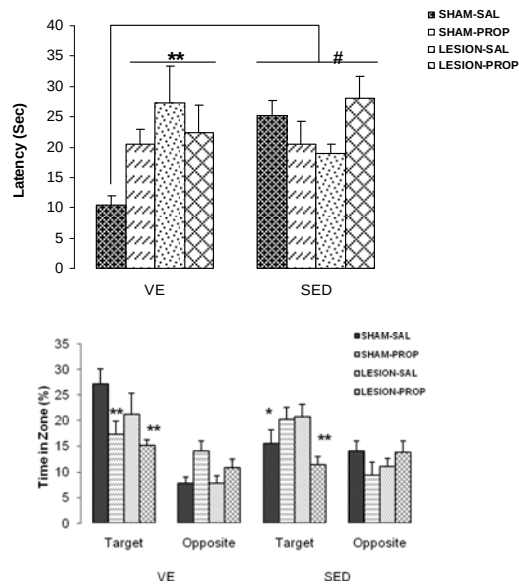
گروه ۲: کاذب (شم) + سالین + بدون ورزش.

گروه ۳: کاذب (شم) + پروپرانولول + ورزش.

گروه ۴: کاذب (شم) + پروپرانولول + بدون ورزش.

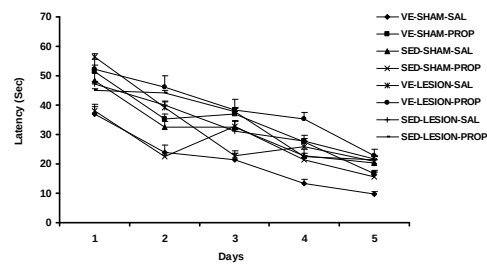
گروه ۵: تخریب + سالین + ورزش.

گروه ۶: تخریب + سالین + بدون ورزش.



شکل ۳. بررسی تخریب هسته قاعده ای- جانبی آمیگدال بر اثرات مهاري پروپرانولول در اثرات مثبت ورزش بر حافظه و یادگیری. الف زمان رسیدن به محل سکو را نشان می‌دهد و ب- زمان گذرانده شده در ناحیه با شعاع ۲۰ سانتی در ربع هدف و ناحیه معادل آن در ربع مخالف ورزش را نشان می‌دهد. ورزش باعث کاهش زمان رسیدن به محل سکو و پروپرانولول موجب بلوک اثرات ورزش بر حافظه و یادگیری می‌شود. تخریب هسته قاعده ای- جانبی آمیگدال، تاثیری بر بلوک اثرات پروپرانولول نداشت. همچنین تخریب آمیگدال به تنهایی هم موجب بلوک اثرات ورزش بر یادگیری می‌شود. الف): ** نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه تخریب کاذب+ورزش+سالمین با گروه‌های تخریب کاذب+ورزشی+پروپرانولول، تخریب+ورزش+سالمین و تخریب+ورزش+پروپرانولول و # نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه تخریب کاذب+ورزش+سالمین و همه گروه‌های غیر ورزشی است. ب): * نشان دهنده اختلاف معنی دار بین زمان سیری شده در ناحیه هدف و ناحیه مخالف در گروه تخریب کاذب+ورزش+سالمین با گروه‌های تخریب کاذب+ورزشی+پروپرانولول و تخریب+ورزش+پروپرانولول و گروه تخریب کاذب+غیر ورزش+سالمین و گروه تخریب+غیر ورزشی+پروپرانولول است. (VE: $P < 0.01$; $P < 0.01$; $P < 0.05$). SED: غیرورزشی، SHAM-SAL: گروه تخریب کاذب (شم) + سالمین، SHAM-PROP: گروه تخریب کاذب (شم) + پروپرانول، LESION-PROP: گروه تخریب+سالمین، LESION-SAL: گروه تخریب+پروپرانول.

ب- زمان گذرانده شده در ناحیه با شعاع ۲۰ سانتی در ربع هدف و ناحیه معادل آن در ربع مخالف. شکل ۳- ب زمان گذرانده شده در ناحیه با شعاع ۲۰ سانتی متری در ربع



شکل ۲. بررسی تخریب هسته قاعده ای- جانبی آمیگدال بر اثرات مهاري پروپرانولول در اثرات مثبت ورزش بر حافظه و یادگیری. ورزش با افزایش یادگیری در حیوانات ورزشی باعث کاهش مدت زمان رسیدن به سکو نسبت به حیوانات غیر ورزشی می‌شود. فقدان اثر تخریب هسته قاعده ای- جانبی آمیگدال بر اثرات مهاري پروپرانولول در اثرات مثبت ورزش بر حافظه و یادگیری در گروه‌ها دیده می‌شود. VE-SHAM-SAL: گروه تخریب کاذب (شم) + سالمین + ورزش اختیاری، SED-SHAM-SAL: گروه تخریب کاذب (شم) + سالمین + بدون ورزش، SHAM-PROP: گروه تخریب کاذب (شم) + پروپرانول + ورزش اختیاری، SED-SHAM-PROP: گروه تخریب کاذب (شم) + پروپرانول + بدون ورزش، VE-LESION-SAL: گروه تخریب + سالمین + بدون ورزش، SED-LESION-SAL: گروه تخریب + سالمین + بدون ورزش، VE-LESION-PROP: گروه تخریب + پروپرانول + بدون ورزش، SED-LESION-PROP: گروه تخریب + پروپرانول + بدون ورزش.

۳- داده‌های تست حافظه (خاطر آوری)

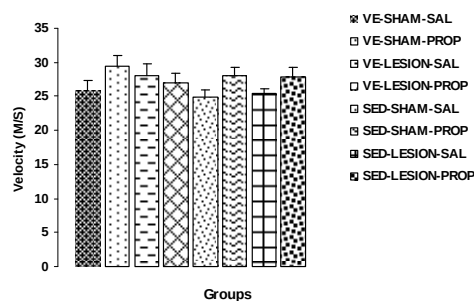
الف- زمان رسیدن به محل سکو

شکل ۳- الف زمان رسیدن به محل سکو را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس دو طرفه حاکی از اثرات معنی‌دار ورزش، عدم تاثیر معنی‌دار تخریب آمیگدال ($F_{3,72}=1/35, P=0/19$) و تعامل معنی دار بین اثر ورزش و پروپرانولول ($P < 0/042$)، $F_{3,72}=4/7$) است. تست توکی نشان داد که زمان رسیدن به محل سکو در گروه تخریب کاذب + ورزش + سالمین به طور معنی‌داری از سایر گروه‌های و گروه تخریب کاذب + ورزش + پروپرانولول کم‌تر بود ($P < 0/05$). همچنین آنالیز واریانس یک‌طرفه حاکی از اثرات معنی‌دار تخریب آمیگدال بر اثرات مثبت ورزش بر حافظه می‌باشد ($F_{3,36}=3/29, P < 0/03$). تست توکی نشان داد که زمان رسیدن به محل سکو در گروه تخریب + ورزش + سالمین به طور معنی‌داری از گروه تخریب کاذب+ورزش + سالمین بیشتر است ($P < 0/05$).

می‌کند ولی قادر نیست اثرات مهارى پروپرانولول را بر تاثیرات ورزش بر یادگیری و حافظه حذف یا تضعیف نماید. نتایج این مطالعه نشان می‌دهند که کاتکول آمین‌های آزاد شده در طی ورزش نقش مهمی در افزایش یادگیری و حافظه توسط ورزش دارند. ما مشاهده کردیم که پروپرانولول قادر است اثرات افزایش‌دهندگی ورزش را در یادگیری و حافظه بلوک کند. این یافته، نتایج مطالعه اخیر ما را تایید می‌کند [۷]. مکانیسم اثرات مهارى پروپرانولول بر افزایش فعالیت‌های شناختی ناشی از ورزش ارادی مشخص نیست. یک مکانیسم احتمالی تعامل بین گیرنده‌های بتاآدرنرژیک و BDNF هیپوکمپ است. مشخص شده است که ورزش ارادی منجر به افزایش BDNF می‌شود [۱۴]. بلوک عمل‌کرد BDNF هیپوکمپ در طی ورزش افزایش یادگیری و حافظه توسط ورزش را مهار می‌کند [۱۵]. این یافته نشان می‌دهد که BDNF اثرات ورزش را بر فعالیت‌های شناختی وساطت می‌کند. یک مطالعه جدید نشان داد که پروپرانولول به تنهایی منجر به تغییر قابل توجه در میزان BDNF mRNA هیپوکمپ نمی‌شود. با این وجود، در حضور پروپرانولول ورزش ارادی قادر نیست منجر به افزایش BDNF mRNA هیپوکمپ شود [۱۶]. این یافته‌ها نشان می‌دهد که اثر ورزش بر افزایش BDNF به فعالیت سیستم نورآدرنرژیک بستگی دارد. از طرف دیگر مطالعات قبلی نشان داده‌اند که رهایش نوراپی‌نفرین و همچنین فعالیت سیستم نورآدرنرژیک در طی ورزش زیاد می‌شود [۱۷]. بنابراین، افزایش نوراپی‌نفرین توسط ورزش احتمالاً از طریق فعال کردن گیرنده‌های بتاآدرنرژیک منجر به افزایش بیان BDNF mRNA می‌شود و به دنبال آن افزایش تولید BDNF منجر به افزایش یادگیری و حافظه می‌شود. از این رو بلوک گیرنده‌های بتاآدرنرژیک با مهار تولید BDNF اثرات ورزش را بر حافظه و یادگیری بلوک می‌کند. البته برای تایید این فرضیه به مطالعات بیش‌تری نیاز است.

از طرفی مطالعات قبلی نشان داده هسته قاعده‌ای -جانبی آمیگدال نقش مهمی در حافظه دارد [۱۸]. غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر هسته قاعده‌ای جانبی آمیگدال توسط لیدوکائین

هدف و ناحیه معادل آن در ربع مخالف را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس دو طرفه حاکی از اثرات معنی‌دار گروه‌ها ($P=0/4$)، $F_{(7,7)}=0/94$ × نواحی ($F_{(7,7)}=45/44$ ، $P=0/001$) است. مقایسه بین گروه‌ها حاکی از این است که زمان صرف شده در ناحیه هدف در گروه تخریب کاذب + ورزش + سالین به‌طور معنی‌داری از سایر گروه‌ها و گروه تخریب کاذب + ورزش + پروپرانولول بیش‌تر است ($P<0/05$). ج- سرعت شنا کردن. شکل ۴ سرعت شنا کردن گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه روی سرعت شنای حیوانات نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد ($F_{(7,7)}=2/15$ ، $P=0/11$). این موضوع نشان می‌دهد که فعالیت حرکتی گروه‌های مختلف یکی است



شکل ۴. بررسی سرعت شنا کردن گروه‌های مختلف. تخریب آمیگدال و ورزش تاثیری بر سرعت شنا کردن در حیوانات ورزشی نسبت به حیوانات غیر ورزشی ندارد. بلوک گیرنده‌های بتاآدرنرژیک با پروپرانول در طی ورزش فاقد تاثیر معنی‌دار بر سرعت شنا کردن در موش‌ها است. VE-SHAM-SAL: گروه تخریب کاذب (شم) + سالین + ورزش اختیاری، SED-SHAM-SAL: گروه تخریب کاذب (شم) + سالین + بدون ورزش، VE-SHAM-PROP: گروه تخریب کاذب (شم) + پروپرانول + ورزش اختیاری، SED-SHAM-PROP: گروه تخریب کاذب (شم) + پروپرانول + بدون ورزش، VE-LESION-SAL: گروه تخریب + سالین + ورزش، SED-LESION-SAL: گروه تخریب + سالین + بدون ورزش، VE-LESION-PROP: گروه تخریب + پروپرانول + ورزش، SED-LESION-PROP: گروه تخریب + پروپرانول + بدون ورزش.

بحث و نتیجه‌گیری

مهم‌ترین یافته مطالعه این است که تخریب هسته قاعده‌ای جانبی آمیگدال، اثرات ورزش را بر یادگیری و حافظه بلوک

یا تروودوتوکسین و یا تحریک الکتریکی و شیمیایی آن سبب اختلال ذخیره حافظه و اکتساب یادگیری در مدل‌های مختلف یادگیری از جمله مدل احترازی غیر فعال می‌شود [۱۹،۲۰]. از طرف دیگر، نشان داده شده است که تخریب دائمی آمیگدال یک هفته تا یک ماه بعد از آموزش اختلالی در به‌خاطرآوری حافظه ایجاد نمی‌کند. از این رو، آمیگدال احتمالاً مکانی دایم برای ذخیره حافظه نیست بلکه احتمالاً ذخیره حافظه را در دیگر ساختمان‌های مغزی از جمله هیپوکمپ، هسته دم‌دار، نواحی از قشر مغز و قشر شنوایی تعدیل می‌کند، ضمن این‌که احتمالاً به عنوان یک مرکز رله‌کننده اطلاعات مطرح می‌باشد [۲۱،۲۲].

البته نقش آمیگدال در ورزش شناخته شده نیست، مطالعات جدید نشان می‌دهند که در طی ورزش بعضی از نوروترانسمیترها در آمیگدال تغییر می‌کنند، برای مثال، در یک مطالعه اخیر نشان داده شده است که ورزش طولانی منجر به افزایش بیان فاکتورهای نوروتروفیک مشتق از مغز در آمیگدال می‌شود [۲۳]. هم‌چنین در مطالعات دیگر نشان داده شده است که ورزش اجباری منجر به تغییرات سیستم سروتونرژیک و افزایش غلظت نوراپی‌نفرین در ساختارهای سیستم لیمبیک از جمله آمیگدال و هیپوکمپ می‌شود [۲۴،۲۵]. مجموعه این مطالعات نشان می‌دهند که آمیگدال در طی ورزش فعال شده و احتمالاً نقش مهمی در اعمال اثرات ورزش بازی می‌کند. از این رو انتظار می‌رود که آسیب آمیگدال بتواند اثرات مثبت ورزش را بر یادگیری و حافظه کاهش دهد. این فرضیه توسط یافته‌های مطالعه ما تایید شد. در این مطالعه ما مشاهده کردیم که آسیب هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال اثرات ورزش را بر یادگیری و حافظه تضعیف می‌کند. این موضوع نشان می‌دهد که وجود یک آمیگدال سالم و دست‌نخورده برای وساطت اثرات مثبت ورزش بر مغز لازم است. این نتیجه‌گیری با نقش آمیگدال کاملاً هم‌خوانی دارد. همان‌گونه که در قسمت‌های پیشین ذکر شد آمیگدال یک ساختار مهم جمع‌بندی‌کننده اثرات عوامل هورمونی و نوروشیمیایی روی حافظه است و از طریق ارتباطات فراوانی

که با سایر ساختارهای مهم مغز دارد، می‌تواند در اعمال اثرات ورزش بر یادگیری و حافظه دخالت داشته باشد. یکی از ساختارهای مهم مرتبط با آمیگدال، هیپوکمپ است. شواهد کالبدشناسی نشان می‌دهند که نورون‌های آمیگدال می‌توانند با نورون‌های شکنج دنداندار هیپوکمپ ارتباط داشته باشند، که این می‌تواند نشان‌دهنده تعامل بین هیپوکمپ و آمیگدال باشد [۲۶].

در این مطالعه انتظار می‌رفت که آسیب آمیگدال بتواند اثرات پروپرانولول را مهار نماید. این فرض بر اساس نقش سیستم بتآدرنرژیک آمیگدال در انواع مختلف یادگیری و حافظه بود [۲۷]. ولی به‌طور غیر قابل انتظاری مشاهده کردیم که تخریب آمیگدال قادر نیست اثرات پروپرانولول را بر ورزش حذف نماید. هر چند تفسیر این یافته مشکل است ولی حداقل می‌توان گفت که سیستم بتآدرنرژیک آمیگدال در وساطت اثرات مهار پروپرانولول بر افزایش یادگیری و حافظه توسط ورزش نقش ندارد و این اثر پروپرانولول احتمالاً از طریق مهار گیرنده‌های بتآدرنرژیک موجود در سایر سیستم‌های مغزی از قبیل هیپوکمپ وساطت می‌شود. بررسی این موضوع، نیازمند مطالعات بیش‌تر در آینده است. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تخریب هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال قادر است اثرات مثبت ورزش را بر یادگیری و حافظه حذف نماید.

تشکر و قدردانی

هزینه این تحقیق از محل طرح تحقیقاتی (شماره ۲۴۲) مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان تامین شده است. این مقاله از پایان‌نامه خانم شیما ابراهیمی استخراج شده است. از کلیه همکاران بخش و مرکز تحقیقات فیزیولوژی سمنان به‌خصوص خانم پاکدل و آقایان صادقی و شهبازی تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

منابع

- galanin and brain-derived neurotrophic factor. *Behav Neurosci* 2004; 118: 1378-1390.
- [15] Vaynman S, Ying Z. and Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 2580-2590.
- [16] Akhavan MM, Emami-Abarghoie M, Safary M, Sadighi-Moghadam B, Vafaei AA, Bandegi AR. and 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.
- [17] Dunn AL, Reigle TG, Youngstedt SD, Armstrong RB. and Bishman RK. Brain norepinephrine and metabolites after treadmill training and wheel running in rats. *Med Sci Sports Exerc* 1996; 28: 204-209.
- [18] Vafaei AA. and Rashidy-Pour A. The effect of reversible abolition of Basolateral amygdala on hippocampal dependent spatial memory processes in rats. *J of Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2004; 12: 40-51 (Persian).
- [19] Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Sharifi MR, Alaei H, Nobahar M. and Smaeili MH. Effects of reversible inactivation of bilateral basolateral amygdala area on memory storage in rat. *J Qazvin Univ Med Sci* 1999; 12: 20-27 (Persian).
- [20] Bucherelli C, Tassoni G. and Bures J. Time dependent disruption of passive avoidance acquisition by post-training intra-amygdala injection of tetrodotoxin in rats. *Neurosci Lett* 1992; 140: 231-234.
- [21] Phelps EA. Human emotion and memory: interactions of the amygdala and hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 2004; 14: 198-202.
- [22] Cahill L. Amygdala complex lesion differentially effect retention of tasks using appetitive and aversive reinforcement. *Behav Neur* 1994; 104: 532-543.
- [23] Liu YF, Chen HI, Wu CL, Kuo YM, Yu L, Huang AM. and et al. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derive neurotrophic factor and synaptotagmin I. *J Physiol* 2009; 587: 3221-3231.
- [24] Chen HI, Lin LC, Yu L, Liu YF, Kuo YM, Huang AM. and et al. Treadmill exercise enhances passive avoidance learning in rats: the role of down-regulated serotonin system in the limbic system. *Neurobiol Learn Mem* 2008; 89: 489-496.
- [25] Dishman RK, Renner KJ, White-Welkley JE, Burke KA. and Bunnell BN. Treadmill exercise training augments brain norepinephrine response to familiar and novel stress. *Brain Res Bull* 2000; 52: 337-342.
- [26] Akirav I. and Richter-Levin G. Mechanisms of amygdala modulation of hippocampal plasticity. *J Neurosci* 2002; 22: 9912-9921.
- [27] Introini-Collison I, Saghafi D, Novack GD. and McGaugh JL. Memory-enhancing effects of post-training dipivefrin and epinephrine: involvement of peripheral and central adrenergic receptors. *Brain Res* 1992; 572: 81-86.
- [1] Luo CX, Jiang J, Zhou QG, Zhu XJ, Wang W, Zhang ZJ. and et al. Voluntary exercise-induced neurogenesis in the postischemic dentate gyrus is associated with spatial memory recovery from stroke. *J Neurosci Res* 2007; 85: 1637-1646.
- [2] Zheng H, Liu Y, Li W, Yanga B, Chena D, Wang X. and et al. Beneficial effects of exercise and its molecular mechanisms on depression in rats. *Behav Brain Res* 2006; 168: 47-55.
- [3] Lambert TJ, Fernandez SM. and Frick KM. Diverent types of environmental enrichment have discrepant effects on spatial memory and synaptophysin levels in female mice. *Neurobiol Learn Mem* 2005; 83: 206-216.
- [4] Vouimba RM, Yaniv D. and Richter-Levin G. Glucocorticoid receptors and β -adrenoceptors in basolateral amygdala modulate synaptic plasticity in hippocampal dentate gyrus, but not in area CA1. *Neuropharmacology* 2007; 52: 244-252.
- [5] Roozendaal B. Stress and memory: Opposing effects of glucocorticoid on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 2002; 78: 578-595.
- [6] Ottawa M, Arai H. and AtomY. Molecular aspects of adrenal regulation for circadian glucocorticoid synthesis by chronic voluntary exercise. *Life Sci* 2007; 80: 725-731.
- [7] Ebrahimi S, Rashidy-Pour A, Vafaei AA. and 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* 2009.
- [8] Adolphs R, Tranel D. and Buchanan TW. Amygdala damage impairs emotional memory for gist but not details of complex stimuli. *Nat Neurosci* 2005; 8: 512-518.
- [9] Anderson AK. and Phelps EA. Lesions of the human amygdala impair enhanced perception of emotionally salient events. *Nature* 2001; 411: 305-309.
- [10] Hurlmann R, Hawellek B, Matusch A, Kolsch H, Wollersen H, Madea B. and et al. Noradrenergic modulation of emotion-induced forgetting and remembering. *J Neurosci* 2005; 25: 6343-6349.
- [11] Vafaei AA. and Rashidy-Pour A. The role of basolateral amygdala adrenergic receptors in hippocampus dependent spatial memory in rat. *Daru* 2008; 16: 18-22.
- [12] Roozendaal B. and McGaugh JL. Amygdala nuclei lesions differentially affect glucocorticoid-induced memory enhancement in an inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem* 1996; 65: 1-8.
- [13] Robinson MJ. and Franklin KB. Central but not peripheral beta-adrenergic antagonism blocks reconsolidation for a morphine place preference. *Behav Brain Res* 2007; 182: 129-134.
- [14] V anHooymissen JD, Holmes PV, Zellner AS, Poudevigne A. and Dishman RK. Effects of β -adrenoreceptor blockade during chronic exercise on contextual fear conditioning and mRNA for

Influence of basolateral amygdala lesion on the inhibitory effects of propranolol on voluntary exercise- induced enhancement of learning and memory

Shima Ebrahimi (M.Sc)¹, Ali Rashidy-Pour (Ph.D)^{*1}, Abbas Ali Vafaei (Ph.D)¹, Maziar Mohammad Akhavan (Ph.D)², Saeed Haghighi (M.Sc)³

1- Laboratory of Learning and Memory, Research Center and Department of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.

2- Skin research center- Laboratory of protein and enzyme, Shahid Beheshti University (M.C), Shohada-e Tajrish Hospital, Shahr-dari St., 1989934148, Tehran, Iran

3 – Dept of Histology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.

(Received: 16 Sep 2009 Accepted: 24 Nov 2009)

Introduction: The beneficial effects of physical activity and exercise on brain functions such as improvement in learning and memory are well documented. In a recent study, we have found that blockade of beta-adrenergic receptors by propranolol attenuates an improvement of learning and memory by exercise. However, the anatomical sites of propranolol actions are not known. The aim of this study was to determine the role of the Basolateral amygdala (BLA) in the inhibitory effects of propranolol on the beneficial effects of exercise on learning and memory.

Material and Methods: In order to block the beta-adrenergic receptors, male mice were received the beta-antagonist propranolol (10 mg/kg), before each night of five consecutive nights of exercise. The BLA lesion was made by electrolytic lesion (2mA, 2 s). Learning and memory were tested on the Morris water maze task using a two-trials-per-day for five consecutive days. A probe trial was performed two days after the last training day.

Results: Our results showed that propranolol reversed the exercise-induced improvement in learning and memory in rat. This effect was not blocked by the BLA lesion. However, lesion of the BLA alone blocked exercise-induced enhancement of learning and memory.

Conclusion: These findings indicate beta-adrenergic receptors located outside the BLA may mediate the effects of exercise on learning and memory. Also, the BLA play an important role in the mediating the effects of physical activity on learning and memory.

Key words: Exercise, Spatial memory, Propranolol, Basolateral Amygdala

* Corresponding author Fax: +98 231 3354186; Tel: +98 231 3354186
Rashidy-pour@sem-ums.ac.ir