

## تأثیر تمرینات مقاومتی و هوازی با شدت‌های مختلف بر بیان ژن BDNF و گیرنده TrkB در موش‌های اوارکتومی شده

احمد میر<sup>۱</sup>، محمدعلی آذربایجانی<sup>۲\*</sup>، حسن متین‌همائی<sup>۳</sup>، حامد فنایی<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت‌بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۲. استاد، دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت‌بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۳. دانشیار، دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت‌بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۴. استادیار، دکترای فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۱۱

### چکیده

**مقدمه:** هدف این تحقیق، بررسی تأثیر تمرینات مقاومتی و هوازی با شدت‌های مختلف بر بیان ژن BDNF و گیرنده TrkB در موش‌های اوارکتومی شده بود.

**مواد و روش‌ها:** تعداد ۶۰ سر موش ماده ۶ تا ۸ ماهه با میانگین وزنی  $23.0 \pm 1.0$  گرم به صورت تصادفی به ۶ گروه ده‌تایی «اوارکتومی + تمرین مقاومتی شدید، اوارکتومی + تمرین مقاومتی کم‌شدت، اوارکتومی + تمرین شنای شدید، اوارکتومی + تمرین شنای کم‌شدت، کنترل و شم» تقسیم شدند. حیوانات گروه تمرین به مدت ۸ هفته، ۳ روز در هفته و هر روز یک جلسه تمرین مقاومتی کردند و با شدت‌های کم و زیاد شنا کردند. پس از انجام برنامه تمرین، بافت هیپوکامپ حیوانات جدا شد. جهت تعیین تغییرات بیان ژن BDNF و TrkB، از روش Quantitative Real time RT-PCR استفاده شد. داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ و روش آماری آنووا تجزیه و تحلیل شد. سطح معنی‌داری  $\alpha < 5\%$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** بیان ژن BDNF در گروه تمرین مقاومتی شدید ( $p=36\%$ ) افزایش معنی‌دار یافت ولی این تفاوت در گروه تمرین مقاومتی کم‌شدت ( $p=0/975$ )، تمرین شنای شدید ( $p=0/141$ ) و شنای کم‌شدت ( $p=0/998$ ) در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود. بیان ژن گیرنده TrkB در گروه تمرین مقاومتی ( $p=36\%$ ) و شنای شدید ( $p=0/002$ ) افزایش یافت اما اختلاف در گروه تمرین مقاومتی ( $p=0/442$ ) و شنای کم‌شدت ( $p=0/688$ ) معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری:** تمرین شنای شدید بیان ژن BDNF و TrkB را افزایش داد ولی تمرینات مقاومتی پرشدت ممکن است نتایج بهتری در پی داشته باشد.

**کلیدواژه‌ها:** تمرین مقاومتی، تمرین شنای BDNF و TrkB، هیپوکامپ، اوارکتومی.

\*نویسنده مسئول: E.mail: ali.azarbayjani@gmail.com

## مقدمه

یائسگی روند بیولوژیک و فیزیولوژیک طبیعی بدن است (۱) اما تغییرات ناشی از کاهش سطح هورمون‌های مترشح از تخمدان در این دوران ممکن است باعث بروز نشانه‌هایی در برخی زنان شود (۲). کاهش استروژن در زنان به‌ویژه پس از یائسگی منجر به مشکلاتی خواهد شد که می‌تواند بر کیفیت زندگی آنان اثرگذار باشد. این مشکلات عبارت‌اند از: اختلالات خواب، علائم وازوموتور، خستگی، سردرد، کاهش میل جنسی، تپش قلب، پوکی استخوان و همچنین نشانه‌های افسردگی، اضطراب، اختلالات حافظه، کاهش حافظه و سرعت پردازش مغز (۳). اختلالات ناشی از یائسگی با درمان‌های جایگزین با استروژن بهبود می‌یابد (۴)؛ اما استفاده طولانی‌مدت از استروژن در زنان یائسه خطر آندومتریوز، سرطان سینه و بیماری‌های قلبی - عروقی را افزایش می‌دهد (۵). امروزه محققان به دنبال یافتن درمان جایگزین برای استروژن هستند که ضمن بهره‌مندی از فواید آن از عوارض ناشی از مصرف استروژن‌های صنعتی پیشگیری کند. یکی از مهم‌ترین آثار فعالیت بدنی منظم بهبود حافظه و جلوگیری از اختلالات حافظه است (۶). امروزه به ورزش و فعالیت جسمانی نه تنها به عنوان روشی برای گذراندن اوقات فراغت، بلکه به عنوان ضرورتی غیرقابل چشم‌پوشی برای سلامت و بهزیستی می‌نگرند. ثمرات مثبت ورزش و فعالیت بدنی منظم در پژوهش‌های مختلف تأیید شده است (۷). اخیراً تحقیقات زیادی در مورد تأثیر ورزش بر عملکرد مغز انجام شده و مکانیسم‌های بیولوژیکی متعددی در مورد آثار ورزش و فعالیت فیزیکی بر عملکرد مغز پیشنهاد شده است. یکی از تأثیرات مهم ورزش بر عملکرد مغز در انسان، بهبود حافظه است (۸). بر اساس نتایج مطالعات، BDNF<sup>۱</sup> موجب گسترش شبکه نرونی، پلاستیسیته نرونی و محافظت از شبکه عروقی دستگاه عصبی مرکزی می‌شود و به عنوان عامل مرتبط با حفاظت عصبی معرفی شده است (۹، ۱۰). مطالعات متعدد افزایش بیان و میزان BDNF را

در خون و مغز پس از انواع فعالیت‌های ورزشی در آزمودنی‌های انسانی و حیوانی گزارش کرده‌اند (۱۱، ۱۲). هیپوکامپ یکی از دو ناحیه نوروتروپیک مغز است که بسیار از ورزش تأثیر می‌پذیرد. توزیع BDNF در مناطق مختلف مغزی و در سطح بالایی در هیپوکامپ که قطب اصلی تشکیلات حافظه و یادگیری است، گزارش شده است (۱۳). از میان تمام نوروتروفین‌های مغزی اتصال BDNF با گیرنده اختصاصی خود تیروزین کیناز B<sup>۲</sup> (TrkB) که تمایل شدیدی برای پیوند با BDNF دارد، تنها سیستم سیگنالی برای نشان دادن مسیرهای سیگنالی شایع در نواحی مختلف هیپوکامپ است (۱۴). تحقیقات متعددی در زمینه تأثیر جنبه‌های مختلف ورزش از لحاظ نوع، شدت، مدت و میزان مسافت طی شده در طول دوره تمرین انجام شده و به نظر می‌رسد نوع و شدت تمرین دو عامل اثرگذار بر بیان ژن BDNF و گیرنده TrkB است (۱۵). در این راستا، سویا<sup>۳</sup> و همکاران تأثیر دو شدت مختلف تمرینی فعالیت کم‌شدت و متوسط را بر میزان BDNF بررسی و مقایسه کردند. سطح BDNF mRNA هیپوکامپ موش‌های صحرایی در فعالیت کم‌شدت در مقایسه با گروه با برنامه پرشدت به شکل قابل توجهی بیشتر بود (۱۶). همچنین هاتینگ<sup>۴</sup> و همکاران تأثیر حاد تمرین ورزشی بر حافظه و BDNF محیطی را در مردان و زنان جوان بررسی کردند و افزایش BDNF را در گروه تمرین با شدت زیاد گزارش کردند (۱۷). در تحقیقی دیگر کبرل<sup>۵</sup> و همکاران تأثیر حجم‌های مختلف تمرینات شدید بر میزان BDNF را روی مردان جوان فعال بررسی و افزایش سطح BDNF را در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل گزارش کردند (۱۸). تحقیقات بسیاری در رابطه با نقش فعالیت بدنی بر مقدار BDNF سرم (۱۷، ۱۸) انجام شده و تحقیقات کمتری نیز نقش فعالیت بدنی بر مقدار بیان BDNF mRNA و گیرنده

2. Tyrosin Kinase Receptor (TrkB)

3. Soya

4. Hotting

5. cabral

1. Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)

## برنامه تمرین مقاومتی

حیوانات گروه تمرین مقاومتی به مدت ۸ هفته، ۳ روز در هفته و یک جلسه در روز، روی یک نردبان محقق ساخته با طول ۱۱۰ Cm و شیب ۹۰ درجه با وزنه‌هایی که به دم آن‌ها متصل شده بود تمرین داده شدند. جهت آشنایی و سازگاری حیوانات با نردبان، آن‌ها یک هفته قبل از شروع برنامه تمرین بدون حمل هیچ‌گونه وزنه‌ای از نردبان بالا رفتند. محقق در این یک هفته، حیوانات را در اولین جلسه تمرین روی قسمت‌های پایین، وسط و بالای نردبان قرار داد. موش‌ها در جلسات بعد از هفته سازگاری، ۲ بار با ۳ تکرار بدون حمل هیچ وزنه‌ای از نردبان بالا رفتند. پس از آن با شروع برنامه تمرین، وزنه‌ها در طی هر هفته به‌طور پیش‌رونده افزایش داده شد.

## پروتکل تمرین مقاومتی با شدت کم

به‌منظور تعیین وزنه مناسب، هر هفته یک‌بار وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد. وزنه‌ها ابتدا معادل ۳۰٪ وزن بدنی حیوانات و شامل ۲ نوبت با ۶ تکرار در هر نوبت بود. فاصله استراحت بین تکرارها ۱ دقیقه و بین نوبت‌ها ۳ دقیقه بود. در جلسات بعد تعداد تکرارها و مقدار وزنه به‌تدریج افزایش یافت. از ابتدای هفته دوم تا پایان دوره، برنامه تمرین شامل ۴ نوبت و ۶ تکرار در هر نوبت با باری معادل ۵۰٪ وزن بدن حیوانات بود. به‌منظور گرم و سرد کردن، حیوانات ۲ بار قبل و بعد از هر جلسه تمرین بدون اینکه وزنه‌ای به دم آن‌ها متصل شود از نردبان بالا رفتند (۲۰) (جدول شماره ۱).

## پروتکل تمرین مقاومتی با شدت زیاد

وزنه‌ها در هفته اول معادل ۵۰٪، در هفته دوم معادل ۶۰٪، در هفته سوم معادل ۷۰٪، در هفته چهارم معادل ۸۰٪، در هفته پنجم معادل ۹۰٪ و از هفته ششم به بعد معادل ۱۰۰٪ وزن بدن حیوان بود. جلسات تمرین شامل ۳ نوبت با ۱۲ تکرار تا هفته چهارم بود و پس از آن به علت سنگینی وزنه‌ها تعداد تکرارها کم و تعداد ست‌ها زیاد شد. به‌این ترتیب، تعداد نوبت‌ها ۵ و تکرارها ۶ شد (۲۱).

TrkB را بررسی کرده‌اند (۱۶). از این‌رو، هدف این تحقیق، بررسی تأثیر تمرینات مقاومتی و هوازی با شدت‌های مختلف بر بیان BDNF mRNA و گیرنده آن یعنی TrkB است.

## مواد و روش‌ها

تعداد ۶۰ سر موش ماده ۶ تا ۸ ماهه با میانگین وزنی  $23.0 \pm 1.0$  گرم از مرکز تحقیقات حیوانی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان تهیه شد. نمونه‌ها به‌صورت تصادفی به ۶ گروه A: اوارکتومی + تمرین مقاومتی با شدت زیاد ( $n=10$ ); B: اوارکتومی + تمرین مقاومتی با شدت پایین ( $n=10$ ); C: اوارکتومی + تمرین شنای تداومی با شدت کم ( $n=10$ ); D: اوارکتومی + تمرین شنای تناوبی با شدت زیاد ( $n=10$ ); E: جراحی بدون اوارکتومی (شم) ( $n=10$ ); و گروه F: اوارکتومی کنترل ( $n=10$ ) تقسیم شدند. تمام حیوانات تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو، دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵٪ و دسترسی آزاد به آب و غذای کافی با سیکل ۱۲ ساعت تاریکی - روشنایی نگهداری شدند. انتخاب حیوانات، خون‌گیری، عمل جراحی برداشت تخمدان و روش کشتن آن‌ها همگی بر اساس قوانین کمیته مراقبت از حیوانات ایران و طبق قوانین اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان انجام شد.

## جراحی اوارکتومی

حیوانات با تزریق داخل صفاقی محلول کتامین سولفات  $50 \text{ mg/kg}$  و زایلازین  $4 \text{ mg/kg}$ ، بی‌هوش و سپس ناحیه شکمی آنان تراشیده شد. پس از شست‌وشو با محلول بتادین، طرفین بخش شکمی بین دو سینه ۲ و ۳ کنار عضله ران موش‌ها شکافته شد و تخمدان جدا و خارج گردید. در پایان به هر حیوان ( $22000 \mu\text{i/kg}$ ) پنی‌سیلین عضلانی تزریق شد. پس از ۶ روز بعد از اوارکتومی اسمیر واژن تهیه شد. در صورتی که طرح سرخسی در گسترش اسمیر و همچنین سلول‌های شاخی مشاهده نمی‌شد اوارکتومی موفقیت‌آمیز قلمداد می‌شد (۱۹).

شد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های مولکولی در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد منجمد و نگهداری شد.

سنجش بیان ژن BDNF و TrkB

جهت اندازه‌گیری بیان ژن از روش Quantitative Real time RT-PCR استفاده شد. برای جداسازی RNA، بافت هیپوکامپ به وسیلهٔ هاون هم‌ژن شد. سپس مقدار ۱ ml از واکنشگر تریزول به بافت هم‌ژن شده اضافه شد و مراحل استخراج RNA طبق دستورالعمل انجام شد (۱۹). در نهایت، RNA به دست آمده با ۳۰ μl از DEPC water رقیق شد. برای اطمینان از درست بودن استخراج، مقدار ۲ μl از RNA استخراج شده روی ژل آگاروز الکتروفورز ران شد و باندهای ۱۸S و ۲۸S به‌طور منفک دیده شد. همچنین میزان کمی RNA استخراج شده با قرائت جذب نوری (OD) در طول موج ۲۶۰nm و ۲۸۰ مشخص شد و نسبت آن به دست آمد؛ به طوری که عدد ۲-۱/۸ برای این نسبت به عنوان غلظت قابل قبول در نظر گرفته شد. به منظور ساخت cDNA ابتدا عمل DNase Treatment انجام شد. برای ساخت cDNA از کیت RNeasy® Tissue kit (QIAGEN, Germany) استفاده شد. طبق دستورالعمل شرکت سازندهٔ کیت، ابتدا ۵ μl از RNA در تیوب ریخته شد و سپس به آن بافر RLT با β-merkaptoethanol اضافه شد. RNA با قرار دادن ستون اسپین RNeasy در یک لولهٔ ۱/۵ ml و اضافه کردن ۳۰-۵۰ μl آب RNase-free جمع‌آوری شد. تمام معرف‌ها شامل پروب‌ها و پرایمرها از Applied Biosystems, USA دریافت شد. پرایمرها به وسیلهٔ این شرکت جهت اهداف مشخص طراحی شد: BDNF, TrkB و β-actin به عنوان ژن‌های مرجع مورد استفاده قرار گرفتند. سطوح بیان β-actin در هر نمونه برای نرمال‌سازی به عنوان ژن مرجع تعیین شد. تست هدف در *in-silico* با استفاده از توالی‌های ژنوم تمام حیوانات و در *in vitro* با استفاده از توالی کامل cDNA موش صحرایی برای اطمینان از توالی‌های هدف شناسایی شد (Applied

پژوهشگر برای تحریک حیوانات به تمرین دم آن‌ها را لمس کرد و مالش داد (جدول شمارهٔ ۲).

برنامه تمرین هوازی شنا

حیوانات در یک مخزن آب به ابعاد ۱۰۰×۵۰×۵۰ cm با درجهٔ حرارت ۳۱°C-۲۸ شنا کردند. حیوانات برای آشنایی با شرایط آب، تمرین و کاهش استرس ناشی از محیط جدید، ۵ روز قبل از اجرای برنامهٔ تمرین ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در مخزن آب قرار داده شدند.

تمرین هوازی شنای تداومی

طبق جدول زیر، حیوانات در هفتهٔ اول ۳۰ دقیقه، در هفتهٔ دوم ۳۵ دقیقه، در هفتهٔ سوم ۴۰ دقیقه، در هفتهٔ چهارم ۴۵ دقیقه، در هفتهٔ پنجم ۵۰ دقیقه، در هفتهٔ ششم ۵۵ دقیقه و در هفتهٔ هفتم و هشتم ۶۰ دقیقه بدون هیچ وزنه‌ای شنای تداومی انجام دادند (۲۲).

برنامه تمرین شنای تناوبی با شدت زیاد

حیوانات در هفتهٔ اول، ۵ نوبت یک دقیقه‌ای با مقاومت ۰ تا ۵٪ و یک دقیقه استراحت، در هفتهٔ دوم ۵ ست یک دقیقه‌ای با مقاومت ۷٪ و یک دقیقه استراحت، در هفتهٔ سوم ۵ ست یک دقیقه‌ای با مقاومت ۸٪ و یک دقیقه استراحت، در هفتهٔ چهارم ۵ ست یک دقیقه‌ای با مقاومت ۱۰٪ و یک دقیقه استراحت، در هفتهٔ پنجم ۱۴ ست بیست ثانیه‌ای با ۱۳٪ مقاومت و ۱۰ ثانیه استراحت، در هفتهٔ ششم ۱۴ ست بیست ثانیه‌ای با ۱۴٪ مقاومت و ۱۰ ثانیه استراحت، در هفتهٔ هفتم ۱۴ ست بیست ثانیه‌ای با ۱۵٪ مقاومت و ۱۰ ثانیه استراحت و در هفتهٔ هشتم ۱۴ ست بیست ثانیه‌ای با ۱۵٪ مقاومت و ۱۰ ثانیه استراحت شنای تناوبی با شدت زیاد انجام دادند (۲۲) (جدول ۳).

استخراج بافت هیپوکامپ

برای استخراج بافت، در پایان ۸ هفته تمرین و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه، موش‌ها با تزریق درون‌صفافی ترکیبی از کتامین (۳۰-۵۰ mg/kg w) و زایلازین (۳-۵ mg/kg w) بی‌هوش شدند و تحت شرایط استریل، ابتدا بافت مغز از مجموعهٔ آن‌ها برداشته و سپس هیپوکامپ جدا شد. بافت مورد نظر بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد

شدت زیاد ( $p=0/002$ ) معنی دار بود اما در گروه تمرین مقاومتی با شدت کم ( $p=0/442$ ) و گروه تمرین شنای تداومی با شدت کم ( $p=0/688$ ) در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود. میانگین، انحراف استاندارد و خطای استاندارد متغیر BDNF و گیرنده تیروزین کیناز B در گروه‌ها در جدول شماره ۴ نشان داده شده است.

### بحث

عمده تغییرات در یائسگی ناشی از تغییراتی است که در عملکرد تخمدان‌ها و توقف ترشح هورمون استروژن اتفاق می‌افتد. هورمون استروژن علاوه بر نقش‌هایی که در سالم نگه‌داشتن استخوان‌ها، تنظیم کلسترول خون و حفظ قابلیت ارتجاعی پوست و عروق دارد در کمک به کیفیت حافظه نیز مؤثر است (۲۴). استروژن آثار گسترده‌ای بر پلاستیسیته سیناپسی در هیپوکامپ دارد؛ همچنین تحریک‌پذیری نورون‌های هیپوکامپ را افزایش می‌دهد و موجب ارتقای تقویت درازمدت و نیز تغییرات چشمگیر مرفولوژیک می‌شود (۲۵). هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرینات مقاومتی و هوازی با شدت‌های مختلف بر بیان ژن BDNF و گیرنده TrkB در هیپوکامپ موش‌های اوارکتومی‌شده بود. توزیع BDNF در مناطق مختلف مغزی و در سطح بالایی در هیپوکامپ که قطب اصلی تشکیلات حافظه و یادگیری است گزارش شده است. از آنجاکه به‌طور کلی BDNF در مغز حضور دارد پردازش‌های متناوب خود و گیرنده‌اش TrkB باعث تثبیت و تقویت اعمال سیناپسی و فرآیندهای شناختی می‌شود (۲۵). در تحقیق حاضر بیان ژن BDNF بافت هیپوکامپ در گروه تمرین مقاومتی با شدت زیاد افزایش یافت که حاکی از آن است که افزایش بیان ژن BDNF ممکن است به شدت تمرینات ورزشی وابسته باشد. همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، روجزوا<sup>۱</sup> و همکاران گزارش کردند میزان BDNF پلاسما پس از ده دقیقه فعالیت کم‌شدت هیچ تغییری نکرد ولی با انجام تمرینات شدید BDNF به‌طور چشمگیری افزایش یافت (۲۶). همچنین

از Biosystems, USA) از آب Nuclease-free. آزمایش‌های Real-time PCR و qPCR استفاده شد. جهت انجام ترکیب واکنش ۵۰ نانوگرم از cDNA در ۱ μl، ۵ μl از مخلوط بافر اصلی، ۱ μl از هر پرایمر هدف و ۳/۵ μl آب RNase free در صفحات ۹۶ عددی ریخته شد. حجم کل مخلوط PCR در هر چاهک ۱۰ میلی‌لیتر بود. تمام نمونه‌های آزمایش در ۳ تکرار بیولوژیکی قرار گرفتند. پس از تهیه صفحه واکنش، ورقه به داخل یک سیستم لیزر حرارتی Applied Biosystem Step One Plus بارگیری شد. پروتکل Real time-PCR بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده شامل نسخه‌برداری معکوس ۲ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد فعالیت پلیمراز، تقلیب در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ثانیه و خنک شدن در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه تعیین شد. مرحله تقلیب و خنک شدن در ۴۰ مرتبه انجام شد. روش محاسباتی نیز با به دست آوردن  $2^{-\Delta\Delta CT}$  صورت گرفت (۲۳).

نحوه گردآوری اطلاعات آماری

به‌منظور تعیین تفاوت در مقدار بیان ژن BDNF و گیرنده TrkB بین گروه‌ها از آزمون واریانس یک‌راهه (ANOVA) و در صورت معنی‌دار بودن، از آزمون تعقیبی توکی (Tukey Post-hoc) استفاده شد. داده‌های آماری با نرم‌افزار آماری اکسل و SPSS نسخه ۲۳ در سطح معنی‌داری  $\alpha < 5\%$  تجزیه و تحلیل شد. داده‌ها به صورت  $mean \pm SD$  نشان داده شد.

### یافته‌ها

بین میانگین نمرات بیان ژن BDNF در گروه تمرین مقاومتی با شدت زیاد در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $p=36\%$ ) ولی تفاوت در گروه تمرین مقاومتی با شدت کم ( $p=0/975$ )، تمرین شنای تناوبی با شدت زیاد ( $p=0/141$ ) و تمرین شنای تداومی ( $p=0/998$ ) در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود. اختلاف میانگین نمرات در بیان ژن گیرنده TrkB در گروه تمرین مقاومتی با شدت زیاد ( $p=36\%$ ) و گروه تمرین شنای تناوبی با

<sup>۱</sup>. Rojas-Vega

سطوح باقی مانده از منابع محیطی همچون پلاکت‌ها، سلول‌های T، سلول‌های B و مونوسیت‌ها گرفته می‌شود (۳۳). یکی دیگر از عواملی که با انجام فعالیت ورزشی دستخوش تغییر می‌شود، عامل رشد شبه‌انسولینی (IGF-1) است. این عامل رشدی مهم‌ترین عامل تغذیه‌ای برای رشد و واکنش‌های متابولیکی است. سلول‌هایی که در مغز نقش مهمی در تولید IGF-1 دارند، ماکروفاژهای پیش‌رگی و میکروگلیا هستند. علاوه بر این، نشان داده شده است سلول‌های اندوتلیال عروق خونی و سلول‌های عروق عضلات صاف نیز IGF-1 را تولید می‌کنند. به شکل دقیقی نشان داده شده است که با تزریق داخل شریانی IGF-1 بیان ژن BDNF در هیپوکامپ حیوانات افزایش می‌یابد (۳۴). افزایش مقدار بیان ژن BDNF و گیرنده تیروزین کیناز B در گروه‌های تمرینات شدید معنی‌دار بود که ممکن است ناشی از افزایش IGF-1 در پی تمرینات مقاومتی با شدت زیاد باشد (۳۵). همچنین در چندین مطالعه گزارش شده است وهله‌های حاد فعالیت هوازی شدید نیز منجر به افزایش سطح IGF-1 می‌شود (۳۶، ۳۵).

برنامه تمرین شنای تناوبی در این تحقیق، با توجه به وزنه‌هایی که به دم حیوانات بسته می‌شد از نوع تمرین با شدت بالا بود؛ بنابراین، یکی از دلایل افزایش بیان ژن BDNF می‌تواند افزایش IGF-1 به دنبال تمرین با شدت زیاد باشد. این عامل رشدی در پی تمرینات مقاومتی افزایش می‌یابد و می‌تواند با عبور از سد خون - مغز BDNF هیپوکامپی را به شکل مثبت تنظیم کند (۲۸). از دیگر عواملی که می‌تواند بر مقادیر BDNF تأثیرگذار باشد میزان کورتیزول است. ثابت شده کورتیزول می‌تواند بیان BDNF را سرکوب کند. در این رابطه سویجو<sup>۶</sup> و همکاران نشان دادند تمرین مقاومتی مقادیر BDNF و گیرنده TrkB را در مقایسه با تمرین هوازی کم‌شدت بیشتر افزایش می‌دهد. آنان اذعان داشتند مقادیر بیشتر این فاکتورها به دلیل سطوح کمتر کورتیکوسترون در گروه

فریس<sup>۱</sup> و همکاران در نتایج تحقیق خود اعلام کردند وقتی آزمودنی‌ها سی دقیقه در سطحی کمتر از ۵۵٪ VO2max دوچرخه‌سواری کردند افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در میزان BDNF آنان ایجاد نشد اما در گروه دیگر که سی دقیقه با شدتی بیش از ۷۵٪ VO2max دوچرخه‌سواری کردند میزان BDNF سرم در آن‌ها افزایش یافت (۲۷).

از سویی افزایش میانگین نمرات بیان ژن گیرنده TrkB در گروه تمرین مقاومتی با شدت زیاد و گروه تمرین شنای تناوبی با شدت زیاد معنی‌دار بود که با نتایج مطالعات کبرل‌ساتوث<sup>۲</sup> و همکاران (۱۸)، مجتهدی<sup>۳</sup> و همکاران (۲۸) و شریفی<sup>۴</sup> و همکاران (۲۹) همسو است. در این راستا، وینتر<sup>۵</sup> و همکاران نیز تأثیر شدت‌های متفاوت تمرین بر عملکرد شناختی و مقادیر BDNF دانشجویان مرد ورزشکار را بررسی کردند. طبق نتایج تحقیق آنان، مقادیر BDNF در گروه با فعالیت ورزشی پرشدت، افزایش معنادار یافت ولی در گروه کم‌شدت این افزایش معنی‌دار نبود (۳۰). احتمالاً تمرین قدرتی حاد می‌تواند BDNF محیطی را در شرایطی که بار تمرین از شدت کافی برخوردار باشد تحریک کند. شاید پروتکل تمرین مقاومتی با شدت زیاد محرک بهتری برای افزایش این عامل تروفیکی و یکی از دلایل افزایش معنی‌دار بیان ژن BDNF در گروه تمرین مقاومتی با شدت زیاد باشد. این یافته از این فرض نشئت می‌گیرد که تمرین مقاومتی از اشاعه شکل‌پذیری هیپوکامپی وابسته به سیگنالی BDNF با گیرنده اختصاصی آن TrkB که اصلی‌ترین مسیر سیگنالی فرایند شکل‌پذیری سیناپسی در هیپوکامپ است حمایت می‌کند (۳۱، ۳۲). از آنجاکه منبع BDNF افزایش‌یافته ناشی از تمرین تا به امروز کاملاً مشخص است، به نظر می‌رسد سرچشمه افزایش از هر دو منبع مرکزی و پیرامونی باشد. هفتاد تا هشتاد درصد از BDNF در گردش، از مغز و

1. Ferris

2. Cabral-Santos

3. Mojtahedi

4. Sharifi

5. Vienter

6. Suijo

تمرین مقاومتی در برابر تمرین استقامتی در پلاسمای خون حیوانات بود (۳۷). علاوه بر این، رواسی<sup>۱</sup> و همکاران و لی<sup>۲</sup> و همکاران در مطالعه‌ای اثر ۸ هفته تمرین مقاومتی و هوازی را بر میزان تغییرات BDNF و کورتیزول پلاسمای خون بررسی کردند. آنان نشان دادند مقادیر BDNF در پی تمرین مقاومتی در پایان هفته‌های چهارم و هشتم نسبت به تمرین استقامتی افزایش بیشتری داشت. همچنین سطوح کورتیزول در تمرین مقاومتی پایین‌تر بود (۳۸). به‌طور خلاصه، داده‌های انسانی و حیوانی پیشنهاد می‌کنند حداکثر بیان ژن BDNF در دوره باز یافت پس از فعالیت اتفاق می‌افتد درحالی‌که حداکثر رهاش در طی انجام فعالیت صورت می‌پذیرد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به گزارش‌های مطالعات پیشین و نتایج تحقیق حاضر می‌توان گفت یکی از مکانیسم‌های درگیر در بهبود شکل‌پذیری هیپوکامپی به دنبال تمرینات مقاومتی با شدت زیاد، تغییرات مثبت BDNF و TrkB است. چراکه فعال‌سازی مسیر سیگنالی BDNF، عملکردهای سلولی از جمله رشد، تکثیر، تمایز و بقا را تعدیل می‌کند (۳۹). فعالیت بدنی باعث بهبود قوای شناختی، یادگیری، ترشح بیان عوامل نروتروفیکی، تکثیر سلول‌های بنیادی در مراکز دینامیک مغزی، تغییرات ساختاری مغز و نهایتاً رشد و بازسازی نواحی‌ای از مغز می‌شود. برآیند و نتیجه نهایی تمام این تغییرات می‌تواند با عوامل رشدی مورد نیاز در فرایند بازسازی، شکل درمانی به خود بگیرد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی برگرفته شد. این تحقیق با کد IR.ZAUMS.REC.1395.213 تصویب شد. نویسندگان این مقاله از همکاری رئیس و کارکنان اجرایی مرکز تحقیقات حیوانی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنند.

<sup>1</sup>. Ravasi

<sup>2</sup>. Lee

## جدول شماره (۱) پروتکل تمرین مقاومتی با شدت کم

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته سوم تا هشتم
مقدار وزنه (گرم)	۳۰ درصد	۴۰ درصد	۵۰ درصد
تعداد تکرار	۶	۵	۶
تعداد نوبت ها	۲	۳	۴

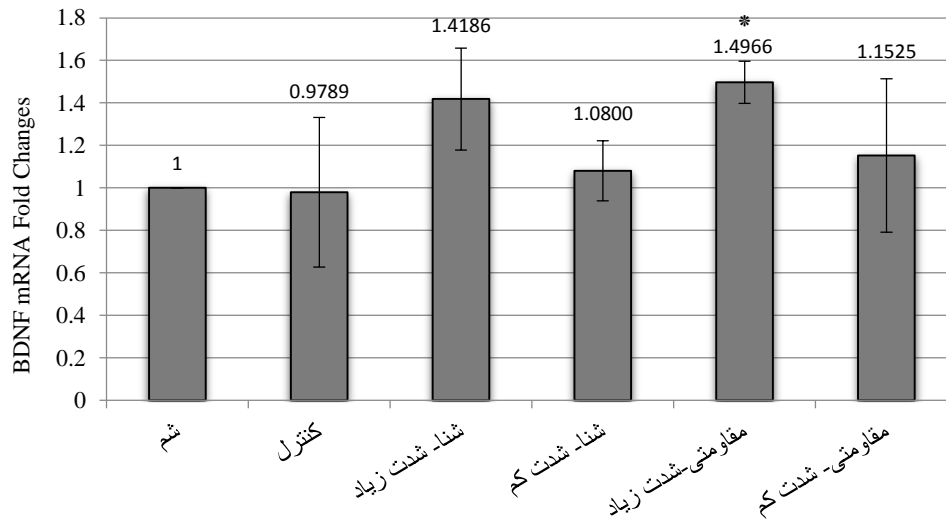
## جدول شماره (۲) برنامه تمرین مقاومتی با شدت زیاد

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم تا هشتم
مقدار وزنه %گرم از وزن حیوان	۵۰	۶۰	۷۰	۸۰	۹۰
تعداد تکرار	۱۲	۱۲	۱۲	۸	۶
تعداد نوبت ها	۳	۳	۳	۴	۵

## جدول شماره (۳) برنامه تمرین شنای تداومی و تناوبی

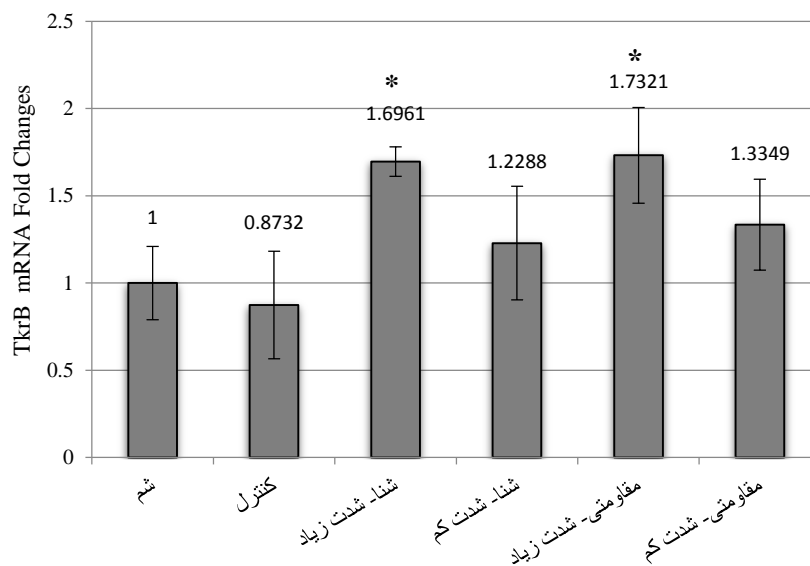
بار (درصد)	تمرین شنای تناوبی		تمرین شنای تداومی	
	استراحت	زمان	ست	هفته
۰	۱(min)	۱(min)	۵	۱
۷	۱(min)	۱(min)	۵	۲
۸	۱(min)	۱(min)	۵	۳
۱۰	۱(min)	۱(min)	۵	۴
۱۳	۱۰S	۲۰S	۱۴	۵
۱۴	۱۰S	۲۰S	۱۴	۶
۱۵	۱۰S	۲۰S	۱۴	۷
۱۶	۱۰S	۲۰S	۱۴	۸





نمودار شماره (۱) میزان تأثیرپذیری ژن BDNF از فعالیت مقاومتی و هوازی در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل در بافت هیپوکامپ موش‌های اواراکتومی شده

\* اختلاف معنی‌دار در بیان ژن BDNF در گروه تمرین مقاومتی با شدت زیاد



نمودار شماره (۲) میزان تأثیرپذیری ژن گیرنده TrkB از فعالیت مقاومتی و هوازی در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل

\* اختلاف معنی‌دار در بیان ژن گیرنده TrkB در گروه تمرین مقاومتی و شنا با شدت زیاد

**References:**

1. Taavoni S, Nazem Ekbatani N, Izadjoo M, Haghani H. Effect of Lemon Balm supplementation on menopausal symptoms. *Complementary Medicine Journal*. 2016; 4(17):1324-36.[Persian]
2. Seo MR, Choi JS, Bae J, Lee WM, Eom JM, Lee E, Keum J. Preoperative diagnostic clues to ovarian pregnancy: retrospective chart review of women with ovarian and tubal pregnancy. *Obstetrics & gynecology science*. 2017 Sep 1;60(5):462-8.
3. Lipovac M, Chedraui P, Gruenhut C, Gocan A, Stammler M, Imhof M. Improvement of postmenopausal depressive and anxiety symptoms after treatment with isoflavones derived from red clover extracts. *Maturitas*. 2010 Mar;65(3):258-61.
4. Sherwin BB. Estrogen and cognitive functioning in women: lessons we have learned. *Behavioral neuroscience*. 2012;126(1):123-7.
5. Barnabei VM, Cochrane BB, Aragaki AK, Nygaard I, Williams RS, McGovern PG, et al. Menopausal symptoms and treatment-related effects of estrogen and progestin in the Women's Health Initiative. *Obstetrics & Gynecology*. 2005 ;105(5):1063-73.
6. da Silva R, de Morais A, de Melo J, Macedo P, Costa L, Hornsby MBO. Neonatal exercise prevents anxiety-related behavior and improves episodic memory in adult but not in aged rats. *FASEB J*. 2015;29(Suppl 1):840.14.
7. Bherer L, Erickson KI, Liu-Ambrose T. A review of the effects of physical activity and exercise on cognitive and brain functions in older adults. *Journal of aging research*. 2013.
8. Snigdha S, De Rivera C, Milgram NW, Cotman C. Exercise enhances memory consolidation in the aging brain. *Frontiers in aging neuroscience*. 2014 ; 6:3.
9. Cohen-Cory S, Kidane AH, Shirkey NJ, Marshak S. Brain-derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. *Developmental neurobiology*. 2010; 70(5):271-88.
10. Dornbos III D, Ding Y. Mechanisms of Neuroprotection Underlying Physical Exercise in Ischemia-Reperfusion Injury. *InTech*. 2012: 299-326.
11. Shahbazi M, Shayan A, Samadi A, Nemati Z. The effect of resistance exercise on memory and neurotrophic factor levels in sedentary student. *JMLD*. 2015.[Persian]
12. Zoladz JA, Pilc A. The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2010; 61(5): 533-41.
13. Yuan J, Yankner B. Apoptosis in the nervous system. *Nature*. 2000; 407: 802– 9.
14. Aoki C, Wu K, Elste A, Len GW, Lin SY, McAuliffe G, Black IB. Localization of brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptors to postsynaptic densities of adult rat cerebral cortex. *Journal of neuroscience research*. 2000;59(3):454-63.

15. Smith MA, Makino S, Kvetnansky R, Post RM. Stress and glucocorticoids affect the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus. *Journal of Neuroscience*. 1995; 15(3):1768-77.
16. Soya H, Nakamura T, Deocaris CC, Kimpara A, Iimura M, Fujikawa T, Chang H, McEwen BS, Nishijima T. BDNF induction with mild exercise in the rat hippocampus. *Biochemical and biophysical research communications*. 2007;358(4):961-7.
17. Hötting K, Schickert N, Kaiser J, Röder B, Schmidt-Kassow M. The effects of acute physical exercise on memory, peripheral BDNF, and cortisol in young adults. *Neural plasticity*. 2016.
18. Cabral-Santos C, Castrillón CI, Miranda RA, Monteiro PA, Inoue DS, Campos EZ, Hofmann P, Lira FS. Inflammatory cytokines and BDNF response to high-intensity intermittent exercise: effect the exercise volume. *Frontiers in physiology*. 2016; 7:509.
19. Clouthier S, Wicha M. Ketamine Xylazine containing anesthesia for mouse surgery preparation. *University of Michigan Health System*. 2012;1-2.
20. Safarzade A, Esmailpour K, Talebi-Garakani E, Fathi R. The effect of low intensity resistance training on serum omentin-1 and adiponectin concentration in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2014; 13 (3) :235-242. [Persian]
21. Molanouri Shamsi M, Hassan ZM, Mahdavi M, Gharakhanlou R, Azadmanesh K, Baghersad L, Edalat R. Influence of Resistance Training on IL-15 mRNA Expression and the Protein Content in Slow and Fast Twitch Muscles of Diabetic Rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012;14(2):185-9. [Persian]
22. Rocha GL, Crisp AH, de Oliveira MR, Silva CA, Silva JO, Duarte AC, et al. Effect of high intensity interval and continuous swimming training on body mass adiposity level and serum parameters in high-fat diet fed rats. *The Scientific World Journal*. 2016.
23. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *methods*. 2001;25(4):402-8.
24. Busari A Olanike. Menopause Symptoms Questionnaire (MSQ). *European Journal of Scientific Research* 2010; 1(45): 261-269.
25. Hosseinzadeh S, Dabidi Roshan V, Mahjoub S, Taghipour Darzi M. The interactive effect of lead acetate and endurance training on the brain derived neurotrophic factor and malondialdehyde levels in rat's cortex. *J Babol Univ Med Sci*. 2012; 14(2):7-15. [Persian]
26. Vega SR, Strüder HK, Wahrmann BV, Schmidt A, Bloch W, Hollmann W. Acute BDNF and cortisol response to low intensity exercise and following ramp incremental exercise to exhaustion in humans. *Brain research*. 2006;1121(1):59-65.
27. Ferris LT, Williams JS, Shen CL. The effect of acute exercise on serum brain-derived neurotrophic factor

- levels and cognitive function. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2007;39(4):728-34.
28. Mojtaehedi S, Shabkhiz F, Akbarnejad A, Salehian O. Effect of 8 weeks Resistance Training on BDNF and TrkB in the Hippocampus of Adult Male Rats. *Armaghane-danesh*. 2014: 380-89. [Persian]
  29. Sharifi GR, Bani Hashemi Emam Gheysi M, Rahnama N, Babaei AR. Comparison of the Effect of 8 Weeks Aerobic Exercise With Resistance Exercise on Brain-Derived Neurotrophic Factor in Elderly Men. *Iranian Journal of Ageing*. 2015;10(3):148-55. [Persian]
  30. Bariohay B, Lebrun B, Moyse E, Jean A. Brain-derived neurotrophic factor plays a role as an anorexigenic factor in the dorsal vagal complex. *Endocrinology*. 2005; 146(12): 5612-20.
  31. Gottschalk WA, Jiang H, Tartaglia N, Feng L, Figurov A, Lu B. Signaling mechanisms mediating BDNF modulation of synaptic plasticity in the hippocampus. *Learning & Memory*. 1999;6(3):243-56.
  32. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, Secher NH, et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Experimental physiology*. 2009; 94(10):1062-9.
  33. Carro E, Trejo JL, Busiguina S, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *Journal of Neuroscience*. 2001; 21(15):5678-84.
  34. Bjersing JL, Larsson A, Palstam A, Ernberg M, Bileviciute-Ljungar I, Löfgren M, Gerdle B, et al. Benefits of resistance exercise in lean women with fibromyalgia: involvement of IGF-1 and leptin. *BMC musculoskeletal disorders*. 2017 Dec;18(1):106.
  35. Elloumi M, El Elj N, Zaouali M, Maso F, Filaire E, Tabka Z, Lac G. IGFBP-3, a sensitive marker of physical training and overtraining. *British journal of sports medicine*. 2005; 39(9):604-10.
  36. Suijo K, Inoue S, Ohya Y, Odagiri Y, Takamiya T, Ishibashi H, et al. Resistance exercise enhances cognitive function in mouse. *Int J Sports Med*. 2013; 34(4): 368-75.
  37. Ravasi AA, Pournemati P, KordiM R, Hedayati M. The Effects of Resistance and Endurance Training on BDNF and Cortisol Levels in Young Male Rats. *Health Sport and Bioscienc*. 2013; 16: 49-78.
  38. Liu YF, Chen HI, Wu CL, Kuo YM, Yu L, Huang AM, Wu FS, Chuang JI, Jen CJ. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. *The Journal of physiology*. 2009 ;587(13):3221-31.

## Effect of Resistance and Aerobic Exercises with Different Intensities on BDNF & TrkB Receptor Gene Expression in Ovariectomized Mice

Mir A<sup>1</sup>, Azarbaijani M A<sup>2\*</sup>, Matinhomaei H<sup>3</sup>, Fanaei H<sup>4</sup>

1. PhD Candidate in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Professor, PhD Candidate in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Associate Professor, PhD in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Assistant Professor, PhD in Physiology, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

Received: 26 February, 2018 ;Accepted: 02 July, 2018

### Abstract

**Introduction:** This study aimed to investigate the effect of resistance and aerobic exercises with different intensities on BDNF & TrkB receptor gene expression in ovariectomized mice.

**Methods:** Sixty 6 to 8-month old mice with average weight of  $230 \pm 10$  g were randomly divided into six 10-member groups: ovariectomized + high-intensity resistance exercises, ovariectomized + low-intensity resistance exercises, ovariectomized + high-intensity swimming exercises, ovariectomized + low-intensity swimming exercises, control and sham. The animals in the exercise groups performed low- and high-intensity exercises for 8 weeks, one session a day, 3 days a week. After the training protocol, the animals' hippocampus tissues were removed. Quantitative Real-time RT-PCR was used to determine the changes occurred in BDNF and TrkB gene expression. The data were analyzed by SPSS 23 using ANOVA at the significant level of  $\alpha = 0.05$ .

**Results:** BDNF gene expression significantly increased in the high-intensity resistance exercise group ( $P < 0.036$ ), but the difference was not significant in the low-intensity resistance exercise ( $P < 0.975$ ), high-intensity swimming exercise ( $P < 0.141$ ) and low-intensity swimming groups ( $P = 0.998$ ) compared to the control group. TrkB receptor gene expression increased in the high-intensity resistance exercise ( $P < 0.036$ ) and swimming exercise groups ( $P < 0.002$ ), but the difference was not significant in the low-intensity resistance exercise ( $P < 0.442$ ) and swimming exercise groups ( $P < 0.688$ ).

**Conclusion:** High-intensity swimming exercise increased BDNF and TrkB receptor gene expression. However, high-intensity resistance exercise is likely to offer better results.

**Keywords:** Resistance exercise, Swimming exercise, BDNF & TrkB, Hippocampus, Ovariectomy

\*Corresponding author: E.mail: ali.azarbayjani@gmail.com