

The Effect of Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66met Polymorphism on Acquisition and Motor Memory Consolidation

Abolfazl Shayan Nooshabadi¹, Alireza Saberi Kakhki^{1*}, Mehdi Sohrabi¹, Mohamad Ali Dowlati²

¹Department of Motor Behavior, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

²Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences and Health Services, Kashan, Iran

Article Info:

Received: 16 Dec 2015

Accepted: 13 Jun 2016

ABSTRACT

Introduction: Brain-derived neurotrophic factors (BDNF) play a role on induction and maintenance of memory and learning. The BDNF gene Val66Met polymorphism impairs expression of this protein. Due to difference between the neural principles operating during motor memory consolidation and the neural principles operating during practice (acquisition) and the effect of BDNF on both of these processes, the aim of the study was to study the effect of val66met polymorphism on acquisition and motor memory consolidation in the process of learning of throwing motor skill. **Materials and Methods:** We randomly selected one hundred university students of Kashan, Iran (mean age: 21.6±2.2 years). After blood sampling, extraction of genomic DNA, implementation of polymerase chain reaction, analyzing of PCR by 1.5 percent Electrophoresis Gel, and in the end sequencing by ABI PRISM 7000 Sequencing Analyzer, 46 participants were identified without val66met polymorphism, and 54 participants identified affected by the polymorphism (met-carriers). 10 participants of each genetic group (20 people) after pre-test practiced backhand baseball pitch for six sessions. After 48 and 96 hours they participated in two consecutive retention tests. **Results:** Our data showed no difference between met-carriers and people without the polymorphism in acquisition and the first retention test. However, met-carriers were significantly weaker than people without the polymorphism in the second retention test. **Conclusion:** These findings suggest that the BDNF val66met polymorphism has higher impact on motor learning in the consolidation phase than acquisition phase.

Key words:

1. Brain-Derived Neurotrophic Factor
2. Polymorphism, Single Nucleotide
3. Learning

*Corresponding Author: Alireza Saberi Kakhki

E-mail: askakhki@um.ac.ir

doi: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.10

تأثیر پلی مورفیسم val66met فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز بر اکتساب و تحکیم سازی حافظه حرکتی

ابوالفضل شایان نوش آبادی^۱، علیرضا صابری کاخکی^{۱*}، مهدی سهرابی^۱، محمدعلی دولتی^۲

^۱ گروه رفتار حرکتی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۲ مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان، کاشان، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۲۴ خرداد ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۲۵ آذر ۱۳۹۴

چکیده

مقدمه: فاکتورهای نوروتروفیک مشتق از مغز در القاء و نگهداری حافظه و یادگیری نقش ایفاء می‌کند. پلی مورفیسم ژن val66met فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز بیان این پروتئین را مختل می‌کند. به علت تفاوت بین اصول عصبی عملیاتی (به کارگرفته شده) در طول تحکیم سازی حافظه حرکتی و اصول عصبی عملیاتی در طول تمرین (اکتساب) و تأثیر فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز بر هر دوی این فرایندها، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پلی مورفیسم val66met بر اکتساب و تحکیم سازی حافظه حرکتی در فرایند یادگیری مهارت حرکتی پرتابی بود. **مواد و روش‌ها:** ما به طور تصادفی صد دانشجوی دانشگاه کاشان، ایران (میانگین سنی 21.6 ± 2.2 سال) را انتخاب کردیم. پس از نمونه‌گیری خون، استخراج DNA ژنومیک، انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، تجزیه و تحلیل واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به وسیله ژل الکتروفورز ۱/۵ درصد و در پایان تعیین توالی توسط آنالیزگر ABI PRISM 7000 Sequencing، ۴۶ شرکت کننده فاقد پلی مورفیسم val66met مشخص شدند و ۵۴ شرکت کننده تحت تأثیر از پلی مورفیسم (حاملین متیونین) مشخص شدند. ۱۰ شرکت کننده از هر گروه ژنتیکی (۲۰ نفر) پس از پیش آزمون، به مدت ۶ جلسه پرتاب بک‌هند توپ بیسبال انجام دادند. پس از ۴۸ و ۹۶ ساعت آن‌ها در دو آزمون یادداری متوالی شرکت کردند. **یافته‌ها:** داده‌های ما هیچ تفاوتی را بین حاملین متیونین و افراد فاقد پلی مورفیسم در اکتساب و آزمون یادداری اول نشان نداد. اگرچه حاملین متیونین به صورت معنی‌داری از افراد فاقد پلی مورفیسم در آزمون یادداری دوم ضعیف‌تر بودند. **نتیجه‌گیری:** این یافته‌ها نشان داد که پلی مورفیسم val66met فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز بر یادگیری حرکتی در مرحله تحکیم سازی تأثیر بیشتری از مرحله اکتساب دارد.

کلید واژه‌ها:

۱. فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز
۲. پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی
۳. یادگیری

* نویسنده مسئول: علیرضا صابری کاخکی

آدرس الکترونیکی: askakhki@um.ac.ir

مقدمه

که مک‌هوگن^۷ و همکاران انجام دادند. آن‌ها با استفاده از fMRI^۸، حرکت انگشت اشاره دست راست را در هنگام انجام یک تکلیف حرکتی بررسی کردند. نتایج نشان داد حاملان متیونین، حجم فعالسازی کمتری را در چندین ناحیه مغزی در مقایسه با افراد فاقد پلی‌مورفیسم val66met^۹ دارا هستند. آن‌ها نشان دادند این موضوع بیان‌کننده تفاوت‌هایی در کارکرد سیستم حرکتی مغز و یادگیری حرکتی بین این دو گروه از افراد است (۱۲). این محققان همچنین در مطالعه خود نیز نشان دادند که بعد از یک روز تمرین تکلیف جهت‌یابی^{۱۰}، حاملان متیونین در یادگیری تکلیف مورد نظر ضعیف‌تر از افراد فاقد پلی‌مورفیسم val66met^{۱۱} عمل کردند (۱۳). در مطالعه‌ای دیگر حاملان متیونین در یادگیری تکلیف تطابق دیداری حرکتی^{۱۲} به طور معنی‌داری ضعیف‌تر از افراد فاقد پلی‌مورفیسم عمل کردند (۱). علاوه بر آن در مطالعه‌ای با استفاده از BOLD fMRI^{۱۱} نشان داده شده که حاملان متیونین در طول فرایندهای رمزگذاری و بازیابی، فعالسازی هیپوکامپی ضعیف‌تری نسبت به افراد فاقد پلی‌مورفیسم val66met^{۱۰} دارند (۱۰). با این حال فرندلیب^{۱۳} و همکاران در تحقیق خود نشان دادند تفاوتی بین حاملان متیونین و افراد فاقد پلی‌مورفیسم در یادگیری حرکتی و یادگیری واژگان وجود ندارد (۲). فراتر از آن در آزمایش بست^{۱۴} و همکاران نشان داده شد حاملان متیونین نسبت به حاملان والین توانایی بازداري پاسخ^{۱۴} بهتری دارند (۱۴).

در یادگیری حرکتی، علاوه بر اکتساب مهارت حرکتی که فوری به دست می‌آید، عنصر مهم دیگر به یادآوری مهارت‌های حرکتی کسب شده قبلی است. تحکیم سازی حافظه حرکتی، تثبیت ردهای حافظه‌ای است که در طول مرحله اکتساب ایجاد شده است. این امر منجر به افزایش پایداری در مقابل مداخلات و حتی پیشرفتی محسوس در اجرا، بعد از یک دوره بی‌تمرینی می‌شود (۱۵). تحقیقات نشان می‌دهد تحت برخی شرایط، زیرلایه‌های نورونی مربوط به ارتباطات رفتاری حافظه حرکتی، در طول چند ساعت یا چند روز بی‌تمرینی مقاوم می‌شوند (۱۶). هرچند مطالعات انجام شده بر پایه شکل‌پذیری سیناپسی، مشارکت BDNF را در هر دو فرایند اکتساب و تحکیم سازی حافظه بلندمدت تکالیف در حال یادگیری نشان می‌دهند (۱۱)، اصول عصبی به کار گرفته شده در طول فرایند تحکیم سازی را با اصول مربوط به دوره تمرین متفاوت می‌دانند (۱۷). با این تفسیر و با توجه به کم بودن شمار تحقیقاتی که به صورت مستقیم یادگیری حرکتی را بررسی کرده‌اند

فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)^۱ تنظیم‌کننده کلیدی شکل‌پذیری سیناپسی^۲ در مغز است که نقش شناخته شده‌ای در القاء و نگهداری حافظه و یادگیری دارد. تأثیر BDNF روی حافظه و یادگیری به دلیل توانایی آن در تنظیم کارکردهای سیناپسی حیاتی، مثل انتقال سیناپسی و تمایز پذیری و رشد سلول عصبی می‌باشد (۱). به صورت خاص، این پروتئین نقشی حیاتی در فرایند تقویت سیناپسی طولانی‌مدت (LTP)^۳ در چندین ناحیه از مغز، شامل: هیپوکامپ، تالاموس، ساختارهای لیمبیک^۴ و مخچه ایفاء می‌کند (۴-۲). نقش BDNF در حافظه و یادگیری از طریق چند تحقیق روی حیوانات به حوزه حرکتی نیز کشیده شده است. تحقیقات گذشته افزایش BDNF در مخچه میمون‌ها (۵) و در قشر حرکتی موش‌ها (۶، ۷) در پاسخ به یادگیری حرکتی را گزارش کرده‌اند.

به هر حال به دلیل عدم امکان بررسی مستقیم مغز انسان، تأثیر BDNF بر انسان عمدتاً از طریق بررسی افرادی که دارای یک پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP)^۵ در کدون ۶۶ ژن BDNF هستند، به انجام رسیده است (۱). وجود این پلی‌مورفیسم منجر به مبادله اسیدآمینه والین با اسیدآمینه متیونین در یک یا هر دو آلل موجود در این ناحیه می‌شود و به همین دلیل آن را پلی‌مورفیسم val66met می‌نامند. این رخداد افراد را به سه دسته ژنتیکی تقسیم می‌کند؛ افراد حامل دو والین، افراد حامل یک والین و یک متیونین و افراد حامل دو متیونین در ناحیه مذکور. افرادی را که حامل حداقل یک متیونین در کدون ۶۶ ژن مربوطه هستند اصطلاحاً حاملان متیونین می‌نامند. همچنین افرادی که حامل دو والین در ناحیه مذکور هستند را افراد فاقد پلی‌مورفیسم val66met می‌گویند. این پلی‌مورفیسم بیان BDNF را دچار اختلال می‌کند (۲). مطالعات نشان داده است پلی‌مورفیسم val66met با ضعف در حافظه اپیزودیک (۸)، کاهش حجم هیپوکامپ، شکل غیر طبیعی قشر (۹) و ضعف در فعالیت هیپوکامپ (۱۰) در افراد جوان همراه شده است.

با توجه به نقش BDNF در تنظیم کارکردهای سیناپسی حیاتی (۱) و شکل‌گیری LTP که به‌عنوان شکل‌پذیری سیناپسی بلندمدت یا تحکیم سازی^۶ حافظه‌ای شناخته می‌شود (۱۱) و همچنین اثرات آن بر یادگیری حرکتی در حیوانات، این فرضیه که پلی‌مورفیسم ممکن است یادگیری حرکتی را تحت تأثیر قرار دهد، محتمل به نظر می‌رسد. از جمله تحقیقاتی که به صورت مستقیم این فرضیه را مورد ارزیابی قرار داده‌اند دو تحقیقی است

¹ Brain derived neurotrophic factor

² Synaptic plasticity

³ Long-term potentiation

⁴ Limbic structures

⁵ A single nucleotide polymorphism

⁶ Consolidation

⁷ McHughen

⁸ Functional magnetic resonance imaging

⁹ Marble navigation task

¹⁰ Visuomotor adaptation task

¹¹ Blood-oxygen-level dependent

¹² Freundlieb

¹³ Beste

¹⁴ Response inhibition

رضایت‌نامه کتبی آگاهانه از آنان گرفته شد. به افراد توصیه شد که در طول انجام تمرینات، در مکان دیگری بجز مکان تحقیق به تمرین مهارت مورد نظر نپردازند و از مواد ممنوعه مذکور استفاده نکنند. مراحل اصلی تحقیق شامل تعیین ژنوتیپ BDNF افراد و انجام پروتکل تمرینی در چند مرحله مختلف تمرین و آزمون بود که در ادامه به تفصیل تشریح شده است.

تعیین ژنوتیپ BDNF

از طریق کیت‌های مخصوص استخراج DNA مربوط به شرکت Gene All، DNA ژنومیک^{۱۵} از خون کامل تهیه شده از شرکت کنندگان، به وسیله روش ستونی استخراج گردید. برای تعیین پلی مورفیسم val66met از واکنش زنجیره پلی‌مرز (PCR)^{۱۶} استفاده شد. برای انجام PCR ژن BDNF، از پرایمر رو به جلو^{۱۷} (5-ACTCTGGAGAGCGTGAAT-3) و پرایمر معکوس^{۱۸} (3-5-ATACTGTCACACACGCTG-3) استفاده گردید. مقادیر مواد استفاده شده برای انجام PCR به صورت: ۱ میکرولیتر DNA الگو، ۱ میکرولیتر پرایمر رو به جلو، ۱ میکرولیتر پرایمر معکوس، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس x2 (با مارک آمپلیکون^{۱۹} قرمز مربوط به شرکت GeneAll) و ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر بود. انجام PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Lab Net^{۲۰} آمریکا، با واسرشتگی اولیه^{۲۱} در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۲ دقیقه آغاز شد و با واسرشتگی ۹۵ درجه سانتی‌گراد در طول ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها^{۲۲} در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در طول ۴۵ ثانیه و طول‌سازی^{۲۳} در ۷۲ درجه سانتی‌گراد در طول ۳۰ ثانیه برای ۳۰ سیکل ادامه یافت و با یک طول‌سازی نهایی^{۲۴} در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در طول ۴ دقیقه پایان یافت. محصول PCR به دست آمده به طول ۳۰۸ bp با استفاده از ژل الکتروفورز ۱/۵ درصد تأیید گردید و سپس با روش Sequencing و با استفاده از آنالیزگر ABI PRISM 7000 Sequencing تعیین توالی گردید. بررسی آنالیزها افراد را به سه دسته: افراد حامل دو اسیدآمینة والین در کدون ۶۶ ژن BDNF (val/val) (ها)، افراد حامل یک اسیدآمینة والین و یک اسیدآمینة متیونین در ناحیه ذکر شده (val/met) (ها) و افراد حامل دو اسیدآمینة متیونین در آن ناحیه (met/met) (ها) تقسیم کرد.

پروتکل تمرینی پرتاب توپ

تکلیف مورد نظر پرتاب توپ بیسبال به یک مربع با اضلاع ۱/۷ متر بود که در پنج متری فرد قرار گرفته بود. این تکلیف بدیع، از ضربه فورهند بیسبال الگو برداری شده است، با این حال کاملاً متفاوت با آن است. در این تکلیف که در تصویر ۱ نشان داده شده است برای یک پرتاب کننده راست دست، پای راست

از یک سو و از سوی دیگر ساده بودن تکالیف انتخابی و همچنین تفاوت احتمالی در میزان شیوع و تأثیرگذاری رفتاری انواع ژنوتیپ BDNF در اقوام مختلف (۲۰-۱۸)، محقق در صدد پاسخ به این سؤال است که آیا افراد دارای ژنوتیپ مختلف در یک جامعه ایرانی، در مراحل مختلف فرایند یادگیری یک مهارت حرکتی پرتابی پیچیده، متفاوت عمل می‌کنند؟ به عبارت دیگر آیا پلی مورفیسم val66met تأثیری بر اکتساب و تحکیم سازی حافظه حرکتی مهارت حرکتی پرتابی دارد؟

مواد و روش‌ها

جامعه و نمونه آماری

جامعه آماری این تحقیق دانشجویان مرد ۲۵-۱۹ ساله دانشگاه‌های شهر کاشان است. با توجه به داده‌های تحقیقات مرتبط (۱۲، ۱۰) نمونه ۱۰۰ نفری ایرانی به صورت هدفمند انتخاب شدند. هیچکدام از افراد سابقه بیماری‌های بهداشتی، عصب‌شناختی و روانپزشکی و مشکلات رفتاری و حرکتی نداشتند و از داروهای غیرقانونی و محرک عصبی (بیشتر از ۱۵ سیگار در روز، بیشتر از ۶ فنجان قهوه در روز و بیشتر از ۵۰ گرم الکل در روز) استفاده نمی‌کردند (۲). به منظور بررسی دقیق‌تر موضوع، گروه‌ها از نظر سابقه ورزشی و BMI افراد نیز همگن شدند. همچنین به دلیل اثر احتمالی فعالیت هورمون‌های جنسی بر تنظیم بیان BDNF (۲۳، ۲۲)، کنترل شد که افراد همگی مرد و مجرد باشند. علاوه بر ویژگی‌های ذکر شده از جمله معیارهای دیگر ورود به مطالعه می‌توان به عدم آشنایی افراد با تکلیف پرتابی منتخب و عدم استفاده از داروهای مربوط به بیماری‌های خاص اشاره داشت. عدم رعایت اصول مربوط به تمرین، غیبت در حتی یک جلسه تمرینی، بروز مشکلات روانی و جسمانی در حین پروتکل تحقیق و استفاده از داروهای غیرمجاز در حین تمرینات از جمله معیارهای خروج از مطالعه بود. آزمایشات ژنتیکی نشان داد که ۴۶ نفر از افراد، حامل دو اسیدآمینة والین، ۱۴ نفر حامل دو اسیدآمینة متیونین و ۴۰ نفر حامل یک والین و یک متیونین در کدون ۶۶ ژن BDNF بودند. افراد حامل دو متیونین از تحقیق حذف شدند و سپس ۱۰ نفر از افراد حامل دو والین و ۱۰ نفر از افراد حامل یک والین و یک متیونین به صورت تصادفی انتخاب شدند و طبق پروتکل تمرینی تعیین شده، تحت تمرین و آزمایشات مربوط به مهارت مورد نظر قرار گرفتند.

روند اجرا

پس از انتخاب افراد و احراز شرایط ورود به مطالعه بر اساس معیارهای لازم، ضمن تشریح روند پژوهش،

¹⁵ Genomic

¹⁶ Polymerase chain reaction

¹⁷ Forward primer

¹⁸ Reverse primer

¹⁹ Ampliquen

²⁰ Thermal cycler

²¹ Initial denaturation

²² Annealing

²³ Extension

²⁴ Final extension

دو گروه، سه دسته کوشش ۱۲ تایی را در هر جلسه تمرین، همراه با بازخورد درونی بینایی اجرا کردند. امتیاز دسته سوم کوشش‌ها در هر جلسه آزمون ثبت شد. این تعداد کوشش به دلیل جلوگیری از آسیب در ورزش‌های پرتابی حداکثری و همچنین دست یافتن به حداکثر اجرا انتخاب شد (۲۵). به طور کلی شش جلسه تمرین در شش روز متوالی انجام شد (پروتکل تمرینی به وسیله پالیوت تعیین شده بود). ۴۸ ساعت پس از اتمام جلسات تمرین از شرکت کنندگان آزمون یادداری اول (۱۲ کوشش) به عمل آمد. سپس، ۹۶ ساعت بعد از آزمون یادداری اول (در این فاصله دو گروه تمرین نکردند)، آزمون یادداری دوم (۱۲ کوشش) با شرایط مشابه به عمل آمد. تغییر شکل حرکت، از جمله تبدیل بک‌هند به فورهند، قرار گرفتن مچ دست در سطحی پایین‌تر از آرنج در هنگام پرتاب و عبور از خط تعیین شده برای برداشتن گام، به‌عنوان خطا محسوب شد.

روش‌های آماری

از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف به‌منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. همچنین برای توصیف آماری متغیرهای وابسته از میانگین و انحراف معیار و برای آزمون فرضیه‌های تحقیق از آزمون‌های پارامتریک t مستقل و تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر (تحلیل مرکب 2×6) استفاده شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌ها در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۹ انجام شد.

یافته‌ها

اطلاعات جمعیت‌شناختی^{۲۵} مربوط به افراد گروه‌های مختلف تمرین در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود گروه‌ها از نظر سن، جنس، سابقه ورزشی و شاخص توده بدن همگن شده‌اند تا آثار احتمالی این متغیرها خنثی شود. همچنین آمار توصیفی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- اطلاعات جمعیت‌شناختی که به صورت فراوانی یا میانگین و انحراف استاندارد نشان داده شده است.

افراد فایده‌یابی مورفیم	حاملان متیولین		
۱۰	۱۰	تعداد	
22.30 ± 2.50	21.70 ± 2.50	سن (سال)	
۰/۱۰	۰/۱۰	جنس (مرد/زن)	
1.77 ± 0.06	1.78 ± 0.05	قد (متر)	
72.70 ± 12.86	69.30 ± 9.64	وزن (کیلوگرم)	
۷ نفر	۷ نفر	مدرسه یا شهرستان	
۱ نفر	۱ نفر		
۲ نفر	۲ نفر	استان	
۲ نفر	۲ نفر	بدون سابقه	
۲ نفر	۲ نفر	کوچک‌تر از ۲۰ (کیلوگرم بر متر مربع)	
۶ نفر	۶ نفر		بین ۲۰ و ۲۵
۲ نفر	۲ نفر		بین ۲۵ و ۳۰

²⁵ Demographic

به واسطه خم شدن زانو و لگن، خط میانی بدن را قطع می‌کند و همراه با آن دست راست با نزدیک شدن افقی شانه و خم کردن آرنج، هدف را نشانه می‌گیرد. در این حالت، فرد در وضعیت پرتاب بک‌هند قرار می‌گیرد. سپس بازو به سمت هدف کشیده شده و آرنج کاملاً باز می‌شود و پس از آن با باز شدن انگشتان دست، توپ به سمت هدف رها می‌شود. همراه با حرکت بازو، یک گام بلند به سمت جلو به وسیله پای همسو (که قبلاً در وضعیت خم لگن و زانو و به صورت معلق در فضا در آمده بود) انجام می‌شود. پرتاب کننده از اصول حلقه جنبشی باز بهره می‌برد. به این معنی که رسیدن به اوج سرعت باز شدن ساعد، پس از رسیدن به اوج سرعت بازو اتفاق می‌افتد، یعنی هنگامی که تنه به سمت جلو چرخیده است. همچنین قسمت پایینی تنه قبل از قسمت بالایی تنه به سمت جلو می‌چرخد. این تمایزات بین حرکات بخش‌های مختلف و به تأخیر انداختن حرکت بازو منجر به، به حداکثر رساندن سرعت پرتاب توپ می‌شود (۲۴).



تصویر ۱- نحوه پرتاب توپ به سمت هدف که در فاصله ۵ متری فرد و روی دیوار قرار گرفته است.

شرکت کنندگان می‌بایست سه شرط را در هنگام پرتاب توپ رعایت می‌کردند؛ ۱- تا هنگام رهایی توپ پشت دستشان باید رو به هدف قرار داشته باشد ۲- تا قبل از اینکه تصمیم به گام برداشتن به سمت خطی که ۱ متر جلوتر از آنها است بگیرند، می‌توانند آزادانه حرکت کنند ۳- هنگام رهایی توپ، می‌بایست مچ دست در ارتفاع بالاتری از آرنج قرار داشته باشد. بعد از شش کوشش پیش‌آزمون، شرکت‌کنندگان بر اساس دستورالعمل‌های کلامی که در ابتدا به آنها داده شد تمرینات را انجام دادند. قبل از شروع تمرین، آنها پنج نمایش از یک الگو را مشاهده کردند و به آنها گفته شد که دقیقاً شبیه به الگو و با حداکثر سرعت حرکت را انجام دهند. پس از پنج کوشش از اکتساب، شرکت کنندگان دوباره مدل را مشاهده کردند (۲۴). افراد هر

جدول ۲- نمره خطای گروهها در جلسات و آزمونهای مختلف که به صورت میانگین و انحراف استاندارد نشان داده شده است.

افراد فاقد پلی مورفیسیم	حاملان متیونین	
۴۷/۳۳ ± ۶/۴۷	۵۰/۹۷ ± ۱۵/۱۲	نمره خطای پیش آزمون (سانتی متر)
۲۹/۲۱ ± ۴/۵۵	۲۷/۵۰ ± ۴/۴۹	نمره خطای جلسه اول اکتساب
۲۱/۶۱ ± ۳/۶۵	۱۹/۳۵ ± ۳/۰۲	نمره خطای جلسه دوم اکتساب
۱۹/۵۰ ± ۸/۵۰	۲۰/۰۸ ± ۳/۶۷	نمره خطای جلسه سوم اکتساب
۱۶/۴۴ ± ۴/۳۵	۲۰/۳۰ ± ۳/۷۶	نمره خطای جلسه چهارم اکتساب
۱۶/۲۱ ± ۴/۲۸	۱۹/۹۲ ± ۵/۰۹	نمره خطای جلسه پنجم اکتساب
۱۵/۸۳ ± ۴/۳۲	۱۹/۴۸ ± ۴/۱۵	نمره خطای جلسه ششم اکتساب
۱۶/۵۴ ± ۵/۵۰	۱۹/۲۴ ± ۳/۹۹	نمره خطای آزمون یادداری اول
۱۵/۴۶ ± ۵/۲۹	۲۳/۹۷ ± ۴/۵۷	نمره خطای آزمون یادداری دوم

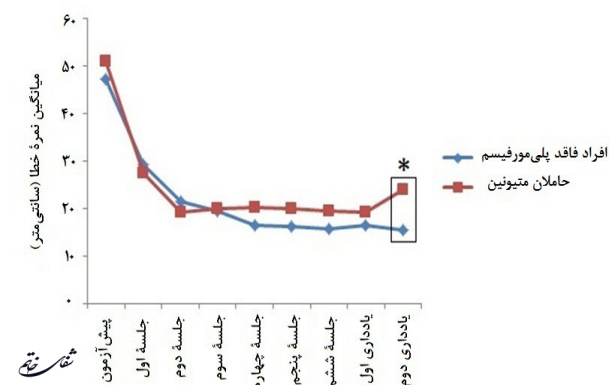
پلی مورفیسیم val66met مقایسه شدند. هر دو گروه با گذشت زمان میزان قابل توجهی در مهارت حرکتی مورد نظر پیشرفت کردند، اما تفاوت معنی داری نه در مرحله اکتساب و نه در آزمون یادداری اول بین آنها نبود. با این حال پس از گذشت ۹۶ ساعت بی تمرینی، گروه فاقد پلی مورفیسیم، در آزمون یادداری دوم عملکرد خود را حفظ کرد (حتی اندکی بهبود بخشید) و از حاملان متیونین که به میزان قابل توجهی نزول یافته بودند به صورت معنی داری پیشی گرفت.

با نگاهی به نمودار ۱ می توان دریافت که تا روز سوم تمرینات، تفاوتی بین دو گروه تمرینی وجود ندارد اما از جلسه چهارم مرحله اکتساب به بعد، گروه حامل متیونین تقریباً به فلات اجرا (بازه زمانی از تمرین که پیشرفت محسوسی در اجرای فرد دیده نمی شود) می رسد، ولی گروه فاقد پلی مورفیسیم val66met همچنان به پیشرفت خود ادامه می دهد. با این حال تفاوت بین گروهها در هیچ یک از جلسات مرحله اکتساب معنی دار نیست. تفاوت به وجود آمده در مرحله اکتساب، با تغییری اندک در مرحله یادداری اول نیز باقی می ماند که نشان از عدم تفاوت معنی دار بین دو گروه و در نتیجه عدم تأثیرگذاری پلی مورفیسیم val66met بر یادگیری مهارت حرکتی پرتابی می باشد. نتایج این مرحله از تحقیق با تحقیقاتی از جمله: جاندی^{۲۶} و همکاران، مک هوگن و همکاران، بست و همکاران همسو نیست ولی با تحقیق فرندلیپ و همکاران همسو می باشد. از مهم ترین علل وجود تفاوت بین نتایج این مرحله از تحقیق حاضر با تحقیقات گذشته می توان به تفاوت در نوع تکلیف به کار گرفته شده و همچنین عدم کنترل جنسیت در تحقیقات گذشته اشاره کرد. هرچه اجزای تشکیل دهنده یک تکلیف بیشتر باشد، پیچیدگی تکلیف بیشتر است ولی لزوماً تکلیف سخت تری نمی باشد. حال اگر این اجزا از ارتباط بالایی با یکدیگر نیز برخوردار باشند، یعنی شیوه اجرای یک بخش به شیوه اجرای بخش پیشین بستگی داشته باشد، آن تکلیف از دشواری بیشتری نیز برخوردار است (۲۶). تکلیف تحقیق حاضر،

پیش آزمون: آزمون t مستقل نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در پیش آزمون دو گروه تمرینی بود ($P=0/493$ ، $t=0/699$ ، $df=181$).

جلسات اکتساب: آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری های مکرر (تحلیل مرکب 2×6) نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت درون گروهی ($F=24/93$ ، $P<0/001$ ، $df=5$) و اثر تعاملی ($F=3/09$ ، $P<0/05$ ، $df=5$) و عدم معنی داری در تفاوت بین گروهی ($F=0/772$ ، $P=0/391$ ، $df=1$) در جلسات اکتساب می باشد.

آزمون های یادداری: آزمون t مستقل نشان داد دو گروه در آزمون یادداری اول تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ($P=0/225$ ، $t=1/257$ ، $df=18$ و $df=1$) ولی در آزمون یادداری دوم تفاوت معنی دار آشکار شد ($P<0/001$ ، $t=3/846$ ، $df=18$ و $df=1$). وضعیت دو گروه تمرینی در مراحل آزمون و جلسات تمرین در نمودار ۱ نشان داده شده است.



نمودار ۱- وضعیت دو گروه در مراحل مختلف تمرین و آزمون. *تفاوت معنی دار بین دو گروه.

بحث و نتیجه گیری

هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر پلی مورفیسیم val66met بر مراحل مختلف فرایند یادگیری یک مهارت حرکتی پیچیده، یعنی پرتاب بک هند توپ بیسبال بود. به این منظور افرادی که تحت تأثیر این پلی مورفیسیم قرار گرفته بودند شناسایی شدند و با افراد فاقد

فراگیر تمرین نمی‌کند. یعنی یا در فاصله استراحت بین جلسات اکتساب به سر می‌برد و یا یک دوره بی‌تمرینی را می‌گذراند (۱۷). تحقیقات حداقل زمان لازم برای وقوع تحکیم سازی را شش ساعت در نظر گرفته‌اند، ولی حداکثر زمان لازم برای این امر مشخص نیست و ممکن است وابسته به متغیرهای زیادی باشد (۱۶، ۲۷). با توجه به هدف تحقیق حاضر که وابسته به بیان BDNF می‌باشد و از طرفی مشارکت BDNF در هر دو فرایند اکتساب و تحکیم سازی حافظه حرکتی تکالیف در حال یادگیری (۱۱)، محققان پروتکل تمرینی را اتخاذ کردند که به واسطه آن امکان مقایسه حاملان متیونین و افراد فاقد پلی‌مورفیسم val66met در هر دو فرایند وجود داشته باشد. همانطور که قبل‌تر نیز عنوان شد، حاملان متیونین هم در جلسات تمرینی مرحله اکتساب و هم در مرحله یادداری اول که پس از تأخیری نسبتاً کوتاه انجام شد، هر چند به تدریج و با رسیدن به جلسات آخر تمرین، عملکرد ضعیف‌تری از خود نشان دادند، تفاوت معنی‌داری با افراد فاقد پلی‌مورفیسم نداشتند. اما پس از یک دوره بی‌تمرینی نسبتاً طولانی، عملکرد حاملان متیونین تضعیف شد و عملکرد افراد فاقد پلی‌مورفیسم val66met تثبیت و این عاملی برای برتری افراد فاقد پلی‌مورفیسم در مرحله آزمون یادداری دوم بود. برای توجیه این نتیجه باید گفت هرچند BDNF در هر دو فرایند اکتساب و تحکیم سازی حافظه حرکتی مشارکت دارد، اصول عصبی به کار گرفته شده در طول فرایند تحکیم سازی با اصول مربوط به دوره تمرین متفاوت است (۱۷).

در تأیید این ادعا، محققان با آزمایش روی تکالیف حرکتی دو دستی^{۲۷} و نیز تکالیف مستلزم یادگیری ارتباطی^{۲۸} نشان دادند که با گذشت زمان، مکان ذخیره از قشر مخچه به هسته مخچه و سپس به مکانی خارج از مخچه منتقل می‌شود (۲۸، ۲۹). همچنین در برخی تکالیف حرکتی پیچیده‌تر، با استفاده از rTMS^{۲۹} نشان داده شده، اگرچه فراگیری تکالیف در مرحله اکتساب وابسته به قشر حرکتی اولیه است، یادآوری و یادداری آن وابسته به سیستم عصبی متفاوتی است (۱۶). با این تفاسیر و با توجه به تحقیقاتی که نشان داده‌اند نوع بیان BDNF در ساختارهای مختلف دستگاه عصبی مرکزی و در فرایندهای انواع مختلف یادگیری متفاوت است (۳۰). تغییر رویه در اثر گذاری عاملی که بیان این پروتئین را دچار اختلال می‌کند در مراحل مختلف یادگیری تأمل برانگیز به نظر می‌رسد.

به طور کلی نتایج نشان دهنده اثر متفاوت پلی‌مورفیسم val66met بر مراحل مختلف یادگیری حرکتی می‌باشد. حاملان متیونین در جلسات تمرینی مرحله اکتساب و

از اجزای زیادی از جمله حرکات چند مفصله پا، تنه و دست تشکیل شده و صحت اجرای حرکت هر کدام از این اعضا، به صحت اجرای حرکت عضو قبلی بستگی دارد. بنابراین تکلیف تحقیق حاضر از پیچیدگی و دشواری بالایی برخوردار است. این درحالی است که تکالیف استفاده شده در تحقیقات قبلی به‌عنوان مهارت حرکتی، بسیار ساده بوده و از بار حرکتی کمی برخوردار بوده‌اند. تکالیفی همچون تطابق دیداری حرکتی، خم و راست کردن انگشت اشاره، بازداری پاسخ، جهت‌یابی و زمان عکس‌العمل سریالی که همگی وابسته به حرکت یک یا چند انگشت بوده و اغلب وابسته به سرعت تصمیم‌گیری و پردازش اطلاعات می‌باشند. شاید تکالیف پیچیده و دشوارتر مثل تکالیف تحقیق حاضر، تحت تأثیر متغیرهای مهم دیگری نیز قرار گرفته‌اند که برای ما ناشناخته بوده و اثر پلی‌مورفیسم را پوشش داده‌اند. از طرفی همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، به نظر می‌رسد افراد هر دو گروه هنوز برای پیشرفت در یادگیری فرصت دارند، چرا که هنوز فاصله قابل توجهی با هدف دارند و بعید نیست که با ادامه تمرین تفاوت‌های بین دو گروه آشکار شود.

همچنین در تحقیقات گذشته جنسیت افراد کنترل نشده است. برخی تحقیقات نشان داده‌اند که استروژن که یک هورمون جنسی زنانه است محرک بیان BDNF می‌باشد (۲۳) بنابراین ممکن است به این واسطه نتیجه‌گیری در مورد اختلال ایجاد شده توسط پلی‌مورفیسم val66met دچار اشکال شود. علاوه بر این در برخی تحقیقات عنوان شده است اثرات پلی‌مورفیسم val66met بر مغز انسان احتمالاً وابسته به سن می‌باشد. یعنی درحالی که پلی‌مورفیسم مورد نظر مغز افراد مسن را تحت تأثیر قرار می‌دهد، ممکن است مغز افراد جوان را تحت تأثیر قرار ندهد (۲).

به هر حال در تفسیری متفاوت، عدم تفاوت بین دو گروه شاید به دلیل عدم گذر زمان مناسب برای نمایان شدن تفاوت‌ها باشد. مطالعات نشان داده‌اند در اثر چند ساعت یا چند روز بی‌تمرینی (بسته به نوع تکالیف) ردهای حافظه‌ای ایجاد شده در مرحله اکتساب، تثبیت و زیرلایه‌های نورونی مربوط به ارتباطات رفتاری حافظه حرکتی مقاوم می‌شوند. این امر منجر به افزایش پایداری و حتی پیشرفتی محسوس در اجرا بعد از یک دوره بی‌تمرینی می‌شود (۱۶، ۱۵). این فرایند را تحکیم سازی حافظه‌ای می‌نامند. در واقع یادگیری حرکتی به واسطه دو فرایند آنلاین و آفلاین تکمیل می‌شود. یادگیری آنلاین به فراگیری مهارت مورد نظر در حین تمرین (در جلسات اکتساب) مربوط است، درحالی که یادگیری آفلاین به زمانی مربوط است که

²⁷ Bimanual movements

²⁸ Associative learning

²⁹ Repeated trans cranial magnetic stimulus

بتوان در این مورد به قطعیت سخن گفت تحقیقات بیشتر و دقیق‌تری لازم است.

تشکر و قدردانی

شایسته است که از همه افرادی که در پژوهش حاضر شرکت داشتند و تحت آزمایشات مربوطه قرار گرفتند کمال تشکر و قدردانی را داشته باشیم.

1. Joundi RA, Lopez-Alonso V, Lago A, Brittain JS, Fernandez-Del-Olmo M, Gomez-Garre P, et al. The effect of BDNF val66met polymorphism on visuomotor adaptation. *Exp Brain Res*. 2012; 223(1): 43-50.
2. Freundlieb N, Philipp S, Schneider SA, Bruggemann N, Klein C, Gerloff C, et al. No association of the BDNF val66met polymorphism with implicit associative vocabulary and motor learning. *PLoS One*. 2012; 7(11): e48327. doi: 10.1371/journal.pone.0048327.
3. Meis S, Endres T, Lessmann V. Postsynaptic BDNF signalling regulates long-term potentiation at thalamo-amygdala afferents. *J Physiol*. 2012; 590(1): 193-208.
4. Huang ZJ, Kirkwood A, Pizzorusso T, Porciatti V, Morales B, Bear MF, et al. BDNF regulates the maturation of inhibition and the critical period of plasticity in mouse visual cortex. *Cell*. 1999; 98(6): 739-55.
5. Ishibashi H, Hihara S, Takahashi M, Heike T, Yokota T, Iriki A. Tool-use learning induces BDNF expression in a selective portion of monkey anterior parietal cortex. *Brain Res Mol Brain Res*. 2002; 102(1-2): 110-2.
6. Klintsova AY, Dickson E, Yoshida R, Greenough WT. Altered expression of BDNF and its high-affinity receptor TrkB in response to complex motor learning and moderate exercise. *Brain Res*. 2004; 1028(1): 92-104.
7. Bussche MVD. The role of brain derived neurotrophic factor in cortical motor learning. San Diego: University of California; 2007.
8. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, et al. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*. 2003; 112(2): 257-69.
9. Pezawas L, Verchinski BA, Mattay VS, Callicott JH, Kolachana BS, Straub RE, et al. The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology. *J Neurosci*. 2004; 24(45): 10099-102.

آزمون یادداری اول تفاوتی با افراد فاقد پلی‌مورفیسم val66met نداشتند. با این حال در آزمون یادداری دوم افراد فاقد پلی‌مورفیسم عملکرد بهتری از حاملان متیونین داشتند. این امر شاید نشان دهنده این موضوع باشد که پلی‌مورفیسم val66met بیشتر از اینکه بر فراگیری افراد در مرحله اکتساب تأثیرگذار باشد، بر تحکیم سازی حافظه حرکتی تأثیر دارد. برای اینکه

منابع

10. Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF, et al. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J Neurosci*. 2003; 23(17): 6690-4.
11. Bramham CR, Messaoudi E. BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. *Prog Neurobiol*. 2005; 76(2): 99-125.
12. McHughen SA, Rodriguez PF, Kleim JA, Kleim ED, Marchal Crespo L, Procaccio V, et al. BDNF val66met polymorphism influences motor system function in the human brain. *Cereb Cortex*. 2010; 20(5): 1254-62.
13. McHughen SA, Pearson-Fuhrhop K, Ngo VK, Cramer SC. Intense training overcomes effects of the Val66Met BDNF polymorphism on short-term plasticity. *Exp Brain Res*. 2011; 213(4): 415-22.
14. Beste C, Baune BT, Domschke K, Falkenstein M, Konrad C. Paradoxical association of the brain-derived-neurotrophic-factor val66met genotype with response inhibition. *Neuroscience*. 2010; 166(1): 178-84.
15. Janacek K, Nemeth D. Predicting the future: from implicit learning to consolidation. *Int J Psychophysiol*. 2012; 83(2): 213-21.
16. Krakauer JW, Shadmehr R. Consolidation of motor memory. *Trends Neurosci*. 2006; 29(1): 58-64.
17. Cohen DA, Pascual-Leone A, Press DZ, Robertson EM. Off-line learning of motor skill memory: a double dissociation of goal and movement. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102(50): 18237-41.
18. Shimizu E, Hashimoto K, Iyo M. Ethnic difference of the BDNF 196G/A (val66met) polymorphism frequencies: the possibility to explain ethnic mental traits. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2004; 126B(1): 122-3.
19. Bath KG, Lee FS. Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. *Cogn Affect Behav*

Neurosci. 2006; 6(1): 79-85.

20. Pivac N, Kim B, Nedic G, Joo YH, Kozaric-Kovacic D, Hong JP, et al. Ethnic differences in brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism in Croatian and Korean Healthy Participants. *Croat. J Med Sci*. 2009; 50(1): 43-8.

21. Tonacci A, Borghini A, Mercuri A, Pioggia G, Andreassi MG. Brain-derived neurotrophic factor (Val66Met) polymorphism and olfactory ability in young adults. *J Biomed Sci*. 2013; 20: 57. doi: 10.1186/1423-0127-20-57.

22. Carbone DL, Handa RJ. Sex and stress hormone influences on the expression and activity of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience*. 2013; 239: 295-303.

23. Zhou J, Zhang H, Cohen RS, Pandey SC. Effects of estrogen treatment on expression of brain-derived neurotrophic factor and cAMP response element-binding protein expression and phosphorylation in rat amygdaloid and hippocampal structures. *Neuroendocrinology*. 2005; 81(5): 294-310.

24. Horn RR, Williams AM, Hayes SJ, Hodges NJ, Scott MA. Demonstration as a rate enhancer to changes in coordination during early skill acquisition. *J Sports Sci*.

2007; 25(5): 599-614.

25. Washington RL, Bernhardt DT, Gomez J, Johnson MD, Martin TJ, Rowland TW, et al. American academy of pediatrics: risk of injury from baseball and softball in children. *Pediatrics*. 2001; 107(4): 782-4.

26. Magill RA. Motor learning and control: concepts and applications. 8th ed. London: McGraw-Hill Education; 2007.

27. Song S. Consciousness and the consolidation of motor learning. *Behav Brain Res*. 2009; 196(2): 180-6.

28. Bracha V, Zhao L, Irwin KB, Bloedel JR. The human cerebellum and associative learning: dissociation between the acquisition, retention and extinction of conditioned eyeblinks. *Brain Res*. 2000; 860(1-2): 87-94.

29. Diedrichsen J, Verstynen T, Lehman SL, Ivry RB. Cerebellar involvement in anticipating the consequences of self-produced actions during bimanual movements. *J Neurophysiol*. 2005; 93(2): 801-12.

30. Monfils MH, Cowansage KK, LeDoux JE. Brain-derived neurotrophic factor: linking fear learning to memory consolidation. *Mol Pharmacol*. 2007; 72(2): 235-7.