

Original Article

The effects of forced training, voluntary training, and playing in an enriched environment on hippocampal orexin A expression in pre-pubertal male rats

Fatemeh Arabtazeri Zade¹ , Behrouz Abdoli^{1*} , Rana Fayazmilani² , Narges Norouzi³ ¹ Department of Cognitive, Behavioral and Technology in Sports, Faculty of Sports Sciences and Health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran² Department of Biological Sciences in Sport, Faculty of Sports Sciences and Health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran³ Faculty of Sport Sciences, Al Zahra University, Tehran, Iran

Abstract

Background and Purpose: Environmental factors can play a role in learning and cognitive development during childhood and adolescence, when the brain is still developing. A variety of physical activities and environmental interactions can also help regulate the orexinergic pathway in the brain, which in turn affects stress responses, food intake, and energy intake. Orexin A is a key neuropeptide that plays a crucial role in various behavioral outcomes. This neuropeptide directly affects both central and peripheral pathways of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. During brain development, the impact of environmental factors and lifestyle on cognitive and emotional development becomes more apparent. For example, environments that provide diverse stimuli and challenging activities can help strengthen the orexinergic system, thereby improving mental functions. The main aim of the present study was to compare the effect of an enriched environment and forced and voluntary training methods on the function of orexinergic system, followed by evaluating anxiety responses in immature male rats.

Materials and Methods: In the present study, 60 immature male rats aged 12 days were selected and randomly divided into 4 groups of 15: forced training, voluntary training, play in an enriched environment, and control. After familiarization and performing the maximum speed test (25 days old; weight, 43.51±7 g) all rats followed the respected protocol for 3 weeks. Rats in the forced exercise group performed endurance running on a treadmill, three times a day, and 6 days a week. In the voluntary group, rats had unlimited access to a running wheel. For playing in an enriched environment, a large cage containing different enriched stimuli (toys, running wheel, and ladder) was provided. Finally, hippocampal tissue from several rats was isolated for biochemical evaluation. Brain levels of orexin A were measured using the Western blot technique. Thereafter, to determine the motor activity the remaining groups were evaluated in an open field behavioral test. One-way ANOVA followed by a Bonferroni post-hoc test was used to assess differences between groups.

* Corresponding Author's E-mail: B-Abdoli@sbu.ac.ir

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2025.240281.1371>

Received: 04/06/2025

Revised: 11/07/2025

Accepted: 31/07/2025



Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Results: Data analysis showed a significant between-group differences for orexin A of the hippocampus of immature rats. Post-hoc analysis revealed a significant difference between the forced training group and the control group ($P=0.022$). In the open field behavioral test, a significant difference was seen between the groups. The results showed that the level of anxiety in the training groups was higher in the control group than the other groups, while between-group comparisons showed higher anxiety levels in the forced training group in comparison to the voluntary training and enriched environment groups. However, no significant between-group differences were seen for general motor activity.

Conclusions: It is concluded that physical activity and environmental factors lead to an increase in orexin A levels, and that forced training had a significant effect, too. Generally, exercise and physical activity led to an increase in orexin A, through affecting the HPA axis, which might result in an anxiety-like behavior in immature rats.

Keywords: Forced and voluntary training, Enriched environment, Orexinergic system, Hippocampus, Pre-pubertal

How to cite this article: Arabtaheri Zade F, Abdoli B, Fayazmilani R, Norouzi N. The effects of forced training, voluntary training and playing in an enriched environment on hippocampal orexin A expression in the pre-pubertal male rats. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(2):15-31.

عنوان

فاطمه عرب طاهری زاده^۱، بهروز عبدلی^{۱*}، رعنا فیاض میلانی^۲، نرگس نوروزی^۳^۱ گروه علوم رفتاری، شناختی و فناوری در ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران^۲ گروه علوم زیستی در ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران^۳ دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: عوامل محیطی می‌توانند در دوران کودکی و نوجوانی که مغز در حال شکل‌گیری و توسعه است، به‌عنوان عاملی مؤثر در یادگیری و توسعه عملکردهای شناختی نقش داشته باشند. تنوع فعالیت‌های بدنی و تعاملات محیطی نیز می‌تواند به تنظیم مسیر اورکسینرژیک مغز کمک کند و به تبع آن بر پاسخ‌های تنش‌زا، دریافت غذا و مقدار دریافت انرژی تأثیر بگذارد. اورکسین A، یک نوروپپتید کلیدی است که نقش بسیار مهم و ارزنده‌ای در پیامدهای رفتاری مختلف ایفا می‌کند. این نوروپپتید به‌طور مستقیم بر هر دو مسیر مرکزی و محیطی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال تأثیر مستقیم دارد. در دوران رشد مغز، تأثیر عوامل محیطی و سبک زندگی بر توسعه شناختی و عاطفی بیشتر نمایان می‌شود. برای نمونه محیط‌هایی که محرک‌های متنوع و فعالیت‌های چالش‌برانگیز را فراهم می‌کنند، می‌توانند به تقویت دستگاه اورکسینرژیک کمک کنند و در نتیجه در بهبود عملکردهای شناختی مؤثر باشند. هدف اصلی این پژوهش، مقایسه تأثیر محیط غنی و شیوه‌های تمرینی اجباری و اختیاری بر میزان عملکرد دستگاه اورکسینرژیک و در پی آن بررسی پاسخ‌های اضطرابی در موش‌های صحرایی نر نابالغ است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ۶۰ سر موش صحرایی نر نابالغ ۱۲ روزه انتخاب و در چهار گروه ۱۵ تایی تمرین اجباری، تمرین اختیاری، بازی در محیط غنی‌شده و کنترل به‌صورت تصادفی جایگزین شدند. پس از آشناسازی و انجام آزمون سرعت بیشینه (۲۵ روزگی، وزن $43/51 \pm 7$ گرم) گروه‌ها طی سه هفته به روش برگزیده پرداختند. گروه تمرین اجباری شامل ورزش دوییدن استقامتی روی نوار گردان بود که سه نوبت در روز و شش روز در هفته به‌صورت فزاینده اجرا شد. در گروه اختیاری موش‌های صحرایی به‌صورت نامحدود به چرخ گردان دسترسی داشتند. برای بازی در محیط غنی‌شده، قفس بزرگی حاوی محرک‌های غنی متفاوت (اسباب‌بازی، چرخ گردان و نردبان) فراهم شد. در پایان بافت هیپوکمپ شماری از موش‌های صحرایی برای ارزیابی بیوشیمیایی جدا شد. سطح مغزی اورکسین A با استفاده از تکنیک وسترن بلات اندازه‌گیری شد. سپس گروه‌های باقی‌مانده طی آزمون رفتاری میدان باز مورد سنجش قرار گرفتند. از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و به‌دنبال آن آزمون تعقیبی بونفرونی به‌منظور سنجش تفاوت‌های بین گروهی استفاده شد.

نتایج: نتایج آزمون آماری تفاوت معناداری را در میزان اورکسین A هیپوکمپ موش‌های صحرایی نابالغ بین گروه‌ها نشان داد که این تفاوت بین گروه تمرین اجباری با گروه کنترل معنادار بود ($P=0/022$). در آزمون رفتاری میدان باز تفاوت معناداری بین گروه‌ها دیده شد. نتایج نشان داد میزان اضطراب گروه‌های تمرینی بیشتر از کنترل و در بین گروه‌ها، گروه تمرین اجباری بیشتر از گروه تمرین اختیاری و محیط غنی بود. همچنین تفاوت معناداری در فعالیت حرکتی عمومی بین گروه‌ها دیده نشد.

نتیجه‌گیری: می‌توان گفت اگرچه فعالیت بدنی و عوامل محیطی به افزایش میزان اورکسین A در هر سه گروه منجر شد، اما تمرین

* رایانامه نویسنده مسئول: B-Abdoli@sbu.ac.ir

اجباری نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری داشت. تمرین و فعالیت بدنی به افزایش اورکسین A منجر شد و با تأثیر بر محور HPA به رفتار اضطرابی در موش‌های صحرایی نابالغ انجامید.

واژه‌های کلیدی: تمرین اجباری و اختیاری، دستگاه اورکسینرژیک، محیط غنی‌شده، نابالغ، هیپوکمپ.

نحوه استناد به این مقاله: عرب طاهری زاده ف، عبدلی ب، فیاض میلانی ر، نوروزی ن. تأثیر دو شیوه تمرینی اجباری و اختیاری و بازی در محیط غنی بر بیان اورکسین A هیپوکمپ و موش‌های صحرایی نر نابالغ. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛ ۱۹(۲): ۱۵-۳۱.

مقدمه

در دوران رشد، مغز انسان با سرعت چشمگیری در حال شکل‌گیری است. از آنجایی که مغز بیشترین انعطاف‌پذیری را برای یادگیری، تطبیق و توسعه عملکردهای شناختی و عاطفی دارد، دوران حساسی به‌شمار می‌آید (۱). گزارش شده است عوامل محیطی و سبک زندگی نقش بسزایی در کیفیت این رشد ایفا می‌کنند (۲). یکی از مهم‌ترین این عوامل، فعالیت بدنی منظم و حضور در محیط‌های غنی و تحریک‌کننده ذهنی است (۳). پژوهش‌ها نشان داده‌اند تحرک بدنی و تعامل با محیط‌های متنوع و پویا می‌توانند فرایندهای نورونی را تقویت کنند و ساختار مغز را بهبود بخشند، همچنین عملکردهای شناختی همچون حافظه، توجه و یادگیری را ارتقا دهند (۳).

اورکسین A (Orexin A) که به‌عنوان هیپوکرتین ۱ نیز شناخته می‌شود، یک نوروپپتید است که بیشتر در هیپوتالاموس تولید می‌شود و نقش مهم و ارزنده‌ای در تنظیم بیداری، اشتها و فعالیت‌های حرکتی ایفا می‌کند (۴). این نوروپپتید بر مسیرهای مختلف عصبی، از جمله دستگاه‌های دوپامینرژیک، نورآدرنرژیک و کولینرژیک تأثیر دارد و می‌تواند موجب افزایش هوشیاری، بهبود حافظه و ارتقای تعاملات نورونی شود (۵). به‌تازگی یافته‌ها نشان داده‌اند اورکسین A افزون بر نقش‌های فیزیولوژیکی عمومی، در سلامت مغز نیز اثر محافظتی دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به بهبود عملکرد حافظه، مقابله با استرس و عوامل تنش‌زا و کاهش خطر بروز بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر و پارکینسون اشاره کرد. برای نمونه، تحقیقی روی الگوهای حیوانی آلزایمر نشان داد که اورکسین A می‌تواند موجب انباشت بیشتر پلاک‌های آمیلوئید- β در مغز شود و عملکرد شناختی را کاهش دهد (۶). افزون بر این، در بیماران مبتلا به آلزایمر، افزایش سطح اورکسین A در مایع مغزی-نخاعی به کاهش کیفیت خواب و اختلالات

شناختی وابسته است (۷). این یافته‌ها نشان می‌دهند که اورکسین A نه‌تنها در تنظیم خواب و اشتها، بلکه در سلامت مغز و پیشگیری از اختلالات نورودژنراتیو نیز نقش دارد.

سطوح اورکسین، به‌ویژه اورکسین A با تحریک نورون‌های خاص در هیپوتالاموس جانبی، مشارکت مهم و ارزنده‌ای در تنظیم فعالیت‌های حرکتی و سوخت‌وساز بدن ایفا می‌کند (۸). نشان داده شده است فعالیت بدنی به‌صورت منظم می‌تواند سبب افزایش سطح پلاسمایی اورکسین A شود (۴). برای نمونه، در پژوهشی روی مردان سالم، پس از ۱۵ دقیقه فعالیت بدنی با شدت متوسط، سطح اورکسین A در خون به‌طور چشمگیری افزایش یافت و تا ۳۰ دقیقه پس از فعالیت ادامه داشت (۹). افزایش سطح اورکسین A با بهبود عملکرد دستگاه عصبی سمپاتیک و افزایش دریافت انرژی همراه است (۹). همچنین اورکسین A به‌عنوان یک پیام درونی برای حفظ سطوح سالم فعالیت بدنی عمل می‌کند (۸).

دستگاه اورکسین (یا هیپوکرتین) نقش مهم و ارزنده‌ای در تنظیم پاسخ‌های اضطرابی دارد. براساس نتایج نورون‌های اورکسین به‌طور مستقیم بر مسیر HPA اثر می‌گذارند و فعالیت بیش از اندازه این نورون‌ها با افزایش سطوح کورتیکواسترون پلازما و اضطراب همبستگی قوی دارد (۳۵) و با فعال‌سازی گیرنده‌های اورکسین ۱ (Ox1R) به افزایش رفتارهای اضطرابی منجر می‌شود (۱۰). برای نمونه در الگوهای حیوانی، مسدودسازی گیرنده Ox1R با داروهایی مانند SB334867، رفتارهای اضطرابی و فیزیولوژیکی وابسته را کاهش داد (۱۱). افزون بر این، گفته شده است در افرادی که اختلال اضطراب پانیک دارند، سطوح بالاتری از اورکسین در مایع مغزی-نخاعی وجود دارد که بیان‌کننده فعالیت بیش از اندازه دستگاه اورکسین در این اختلال است (۱۲). دستگاه اورکسین، به‌ویژه Ox1R، یک پاسخ

استرسی و تنش‌زای یکپارچه را هماهنگ می‌کند. حملات پانیک همچنین در مرحله بیداری که سطح اورکسین در بالاترین حد خود است، شیوع بیشتری دارد (۱۳). این یافته‌ها نشان می‌دهند که دستگاه اورکسین می‌تواند به عنوان هدفی برای درمان‌های دارویی جدید در اختلالات اضطرابی مطرح باشد.

در دوران رشد، تفاوت‌های چشمگیری در نحوه تعامل با محیط و تأثیر آن بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) وجود دارد. تمرین اجباری، مانند فعالیت‌های بدنی اجباری، می‌تواند به افزایش پاسخ‌های استرسی و تنش‌آفرین و تحریک بیش از اندازه محور HPA منجر شود (۱۴). در مقابل، تمرین اختیاری، مانند دویدن در چرخ، می‌تواند سبب کاهش پاسخ‌های استرسی و تنش‌آفرین و بهبود تنظیم محور HPA شود (۱۵). افزون بر این، بازی در محیط‌های غنی‌شده که هم شامل تعامل اجتماعی و هم محرک‌های حسی متنوع است، کاهش پاسخ‌های استرسی و تنش‌آفرین و بهبود عملکرد محور HPA در دوران رشد را در پی دارد (۱۶). این تفاوت‌ها نشان‌دهنده حساسیت بالای محور HPA در دوران رشد به نوع و کیفیت تعامل با محیط است.

تمرینات ورزشی اثر چشمگیری بر سطوح اورکسین A در بدن دارند. نشان داده شده میزان اورکسین A در افراد چاق و دارای اضافه وزن، با میزان فعالیت بدنی روزانه آن‌ها همبستگی مستقیم داشته است، به‌طوری‌که فعالیت‌های روزمره مانند پیاده‌روی و کارهای خانگی با افزایش سطح اورکسین A همراه بودند (۸).

در تحقیقی تأثیرگذاری شدت‌های تمرینی بر میزان اورکسین A مقایسه و نشان داده شد تمرین ورزشی طولانی‌مدت با شدت متوسط می‌تواند از طریق افزایش بیان اورکسین A به بهبود یادگیری فضایی و توانایی حافظه موش‌ها منجر شود، اما با افزایش شدت بار تمرین میزان بیان mRNA های اورکسین A در مخچه کاهش یافت که این خود به کاهش توانایی حافظه در موش‌ها

منجر شد (۱۷).

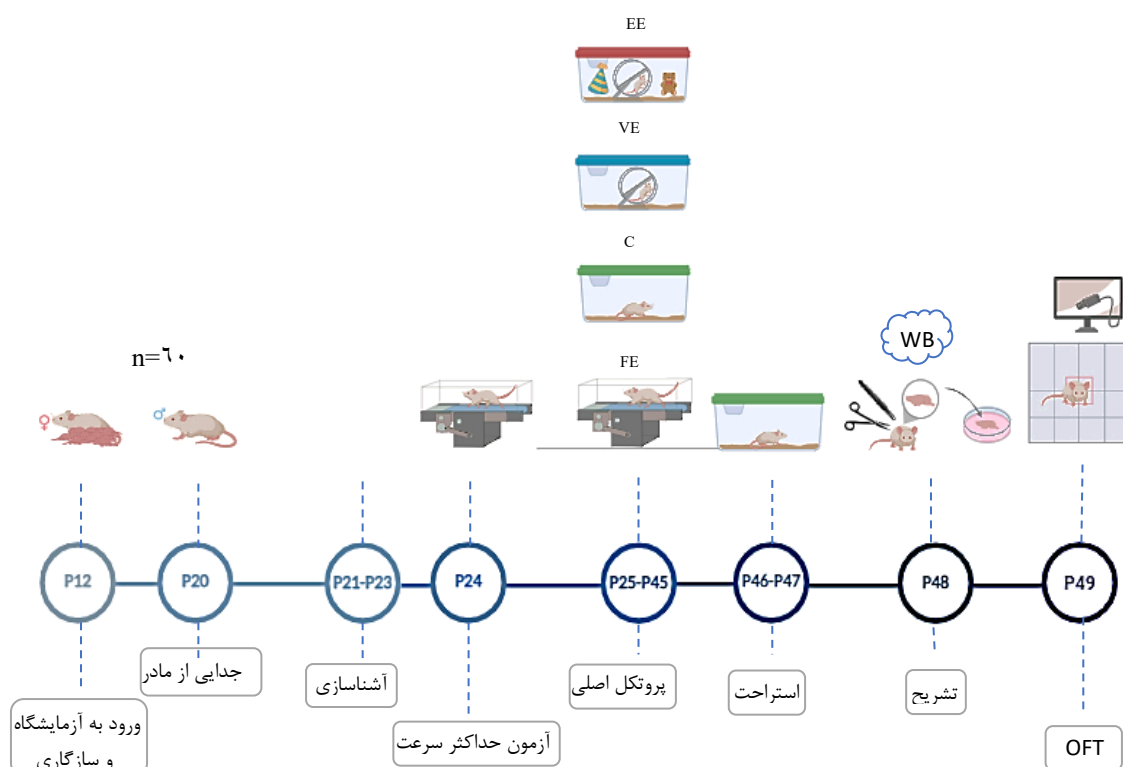
با توجه به نقش مهم اورکسین، تأثیر ورزش بر میزان اورکسین به صورت محدود بررسی شده است. برای نمونه، نتایج یک تحقیق غیرانسانی نشان داد تمرین ورزشی به ترشح اورکسین منجر شد (۱۸، ۱۹). همچنین یک دوره تمرین ورزشی اجباری کوتاه‌مدت افزایش سطح Orexin A در مایع مغزی نخاعی موش‌ها را در پی داشت (۲۰) و در مقابل هشت هفته تمرین ورزشی کاهش سطوح اورکسین و غذای مصرفی موش‌ها را تسهیل کرد (۲۱). اگرچه پژوهش‌های اندکی به نقش فعالیت بدنی بر میزان اورکسین پرداخته‌اند، اما انتظار می‌رود ورزش با مدولاسیون محور اورکسین A موجب بهبود تنظیم سوخت‌وساز، رفتار تغذیه‌ای و تراز انرژی شود. تحقیقات انجام‌شده ورزشی تأثیرگذاری مثبت فعالیت ورزشی بر افزایش میزان اورکسین را نشان داده‌اند، اما تاکنون هیچ پژوهشی به بررسی و مقایسه فعالیت بدنی در شرایط محیطی متفاوت بر میزان اورکسین A ترشح‌شده از هیپوکمپ به‌ویژه در دوران رشد پیش از بلوغ نپرداخته است. از این‌رو هدف این پژوهش بررسی تأثیر دو شیوه تمرینی اجباری و اختیاری و بازی در محیط غنی بر بیان اورکسین A هیپوکمپ در موش‌های صحرایی نر نابالغ است.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این پژوهش ۶۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۲ روزه همراه با مادر از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج خریداری شده و سپس به آزمایشگاه دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه شهید بهشتی منتقل شدند. محیط نگهداری دارای دوره روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته معکوس (شروع تاریکی هشت صبح)، میانگین دمای 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 55 ± 4 درصد بود. در طول پژوهش حیوانات از آب و غذا با دسترسی آزاد استفاده کردند.

(چرخ گردان) اختیاری و قفس غنی آشنا شدند (۲۱-۲۳ روزگی). سپس آزمون سرعت بیشینه (۲۴ روزگی) تعیین و در حین این آزمون آموزش پذیری موش‌های صحرایی نیز بررسی شد. همه ملاحظات اخلاقی در این پژوهش بر پایه قوانین و مقررات کار با حیوانات آزمایشگاهی، مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه شهید بهشتی (IR.SBU.REC.1402.115) انجام گرفت (۲۳).

حیوانات در ۲۰ روزگی از مادر جدا شده و به روش بلوک‌بندی تصادفی و بر پایه وزن و روز تولدشان به چهار گروه تمرین اجباری، فعالیت بدنی اختیاری، محیط غنی‌شده و کنترل-استرس ($n=15$) جایگزین شدند. مقدار آب مصرفی به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد (شکل ۱) (۲۲)، پس از گروه‌بندی، موش‌های صحرایی مطابق و بر پایه شیوه برگزیده نوار گردان با ویل رانینگ



شکل ۱. طرح آزمایشی. FE (گروه تمرین اجباری)، VE (گروه تمرین اختیاری)، EE (گروه بازی در محیط غنی)، C (گروه کنترل)، WB (روش وسترن بلات)

اجرا شد. از پمپ باد برای تحریک دویدن موش‌ها روی نوار گردان استفاده شد (جدول ۱) (۲۴-۲۶). حیوانات شش روز در هفته و روزانه به صورت نامحدود، در قفس‌های اختیاری مجهز به چرخ گردان به محیط ۱۰۰ سانتی‌متر، طول ۱۰ سانتی‌متر، مقاومت پنج گرم، تهیه‌شده از شرکت تجهیزگستر امید ایرانیان قرار داده شدند و به تمرین دویدن داوطلبانه پرداختند. در ۲۴ ساعت نخست شیوه اصلی، برای سنجش میزان تمایل

روش اجرای پژوهش: برنامه تمرین اجباری سه نوبت در روز (صبح: ساعت هشت تا ۱۲، ظهر: ساعت ۱۲ تا ۱۶، عصر: ساعت ۱۶ تا ۲۰) و شش روز در هفته از ۲۵ روزگی و با میانگین وزن $43/51 \pm 7$ گرم انجام شد. سرعت اولیه با ۷۰ درصد سرعت بیشینه دویدن (۲۰ تا ۲۲ متر بر دقیقه) آغاز شد و هر هفته یک متر بر دقیقه به سرعت دویدن افزوده شد. گرم کردن و سرد کردن با ۴۰ درصد سرعت بیشینه دویدن به مدت پنج دقیقه

به دویدن داوطلبانه، هر موش صحرایی به صورت تک در قفس اختیاری قرار داده شد و مسافت پیموده شده در پایان روز برآورد شد. موش‌های صحرایی در صورت دویدن دست کم ۱۵۰۰ متر به گروه‌های دوتایی در هر قفس تقسیم شدند و مسافت پیموده شده هنگام چرخه تاریکی (زمانی که موش‌ها فعال شدند) از شمارنده‌های متصل به چرخ‌های در حال اجرا ثبت شد. میانگین مسافت دویدن گروه اختیاری در سه نوبت روز گذشته، به گونه‌ای همسان‌سازی شده به عنوان مسافت طی شده گروه اجباری تعیین شد (۲۷).

گروهی از موش‌ها ($n=15$) در قفس بزرگی (به ابعاد $40 \times 60 \times 90$ سانتی‌متر مربع) که برای ایجاد یک محیط غنی جهت بازی و فعالیت بدنی داوطلبانه در سه طبقه آماده شده بود، نگهداری شدند. این فضا شامل وسایل شناختی، بصری (دیداری) و لمسی (بساوایی) همچون تونل، طناب، کلبه، اسباب‌بازی، چرخ گردان و نردبان بود. حیوانات غیرغنی شده نیز در قفس‌های استاندارد ($15 \times 27 \times 42$ سانتی‌متر مربع) دو تا سه موش در هر قفس نگهداری شدند (۲۶).

آزمون سرعت بیشینه و آموزش پذیری: در ۲۴ روزگی آزمون سرعت بیشینه دویدن پس از گرم کردن با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز شد و سرعت هر دو

دقیقه، یک متر بر دقیقه افزایش و تا زمان واماندگی حیوانات ادامه یافت. آخرین تلاش هر موش به عنوان بیشینه سرعت در نظر گرفته شد (جدول ۲) (۲۶). برای ارائه معیاری از آموزش پذیری طبق دشمن و همکاران، عملکرد هر حیوان حین سنجش سرعت بیشینه بر پایه مقیاسی از یک تا پنج ارزیابی شد. به صورتی که حیوانات با میانگین امتیاز سه یا بالاتر در فرایند پژوهش قرار گرفتند (۲۶).

آزمون میدان باز (OFT): برای این منظور یک جعبه پلکسی گلس مشکی (90×90 سانتی‌متر مربع) با تقسیم بندی ۲۵ مربع تحت عنوان نواحی مرکزی و بیرونی (نه مربع فضای مرکز و ۱۶ مربع فضای بیرون)، محیط آزمون را تشکیل داد. هر موش در مرکز قرار داده شد. محیط باید کم‌وبیش تاریک و بدون صدا باشد تا از تنش و استرس وارده به حیوان جلوگیری شود. حرکت و رفتار حیوان طی مدت زمان پنج دقیقه به وسیله دوربین مادون قرمز که در ارتفاع دومتری بالای ناحیه مرکزی محیط آزمون قرار گرفته بود، ردیابی و کنترل شد. پارامترهای مسافت کلی حرکت و شمار دفعات و زمان عبور و مرور در نواحی مرکز جهت سنجش اثر شبه اضطرابی و فعالیت عمومی حرکت، محاسبه شد (۲۶).

جدول ۱. شیوه تمرین اجباری

سرد کردن	بدنه اصلی تمرین			مراحل تمرین	
	عصر	ظهر	صبح	گرم کردن	مؤلفه تمرین
پنج دقیقه	$242/94 \pm 115/18$	$170/20 \pm 7/57$	$199/76 \pm 35/59$	پنج دقیقه	میانگین زمان تمرین (دقیقه)
۴۰٪	۷۰٪	۷۰٪	۷۰٪	۴۰٪	شدت تمرین (متر/دقیقه)

جدول ۲. بیشترین مسافت موش‌های صحرایی در آزمون سرعت بیشینه دویدن

کنترل	محیط غنی	تمرین اختیاری	تمرین اجباری	بیشینه مسافت (متر)
۱۰۰۵/۵۱	۸۱۵/۵۳	۶۲۹/۴۸	۹۷۸/۸۴	

روش آزمایشگاهی: پس از گذشت ۷۲ ساعت از آخرین جلسه تمرین، در ۴۸ روزگی چهار موش‌های صحرایی از هر گروه با تزریق درون‌صفاقی کتامین (۹/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱/۰۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تحت بی‌هوشی عمیق قرار گرفتند. سپس با قطع سر توسط گیوتین، معدوم شدند. پس از آزمایش رفلکس و بازتاب از طریق دم، مغز موش‌ها جدا و برای از بین بردن خون اضافی سطحی در محلول نمکی نرمال سالین شسته شد. سپس نمونه‌ها در نیتروژن مایع برای انتقال به دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

همه مراقبت‌ها تحت نظارت کمیته اخلاق دانشگاه شهید بهشتی و در مدت زمان کم و بدون ایجاد درد در محیطی آرام به‌منظور جلوگیری از ترس و اضطراب حیوان انجام شد. همچنین مکان تشریح و نگهداری حیوانات مجزا از یکدیگر انتخاب شد (۲۳).

در فرایند ایمونوبلاتینگ بافت هیپوکمپ در بافر لیز (Santa Cruz RIPA buffer) دارای کوکتل مهارکننده پروتئاز هموژنیزه و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۳۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. غلظت پروتئین‌ها در لیزات‌ها با استفاده از کیت برادفورد و آلبومین سرم گاوی (BSA, 0.01–0.1 mg/ml) به‌عنوان پروتئین استاندارد تعیین شد. برای هر نمونه، مقدار ۶۰ میکروگرم پروتئین با آب مقطر و بافر نمونه مخلوط و به مدت پنج دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس پروتئین‌ها با استفاده از ژل‌های پلی‌اکریل آمید SDS-PAGE (۱۰٪ برای اورکسین A) جدا شده و از طریق الکتروبلاتینگ به غشای PVDF منتقل شدند. سپس به‌منظور جلوگیری از اتصال غیراختصاصی، غشاهای PVDF با BSA ۱۰٪ برای اورکسین A و ۵٪ شیر خشک بدون چربی در بافر TBST برای بتا اکتین به مدت یک ساعت و ۳۰ دقیقه بلاک شدند.

در دمای چهار درجه سانتی‌گراد آنتی‌بادی‌های اولیه برای اورکسین (1:1000 in 2% BSA, Bioss, bs-A 15509R و بتا اکتین (1:3000 in 2% milk, G_bioscience) به مدت ۱۶ ساعت روی بلات‌ها انکوبه شدند. سپس آنتی‌بادی‌های اولیه حذف و غشاهای سه بار با TBST شسته شدند. سپس غشاهای آنتی‌بادی‌های ثانویه (rabbit anti-goat IgG,) (Millipore, diluted at 1:3000) به مدت یک ساعت و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. در ادامه آنتی‌بادی‌های ثانویه حذف و غشاهای سه بار شسته شدند. باندهای پروتئینی با استفاده از دستگاه تشخیص الکتروکمی لومینانس (ECL) دیده شدند. تجزیه و تحلیل تصویر با استفاده از نرم‌افزار Image J انجام شد.

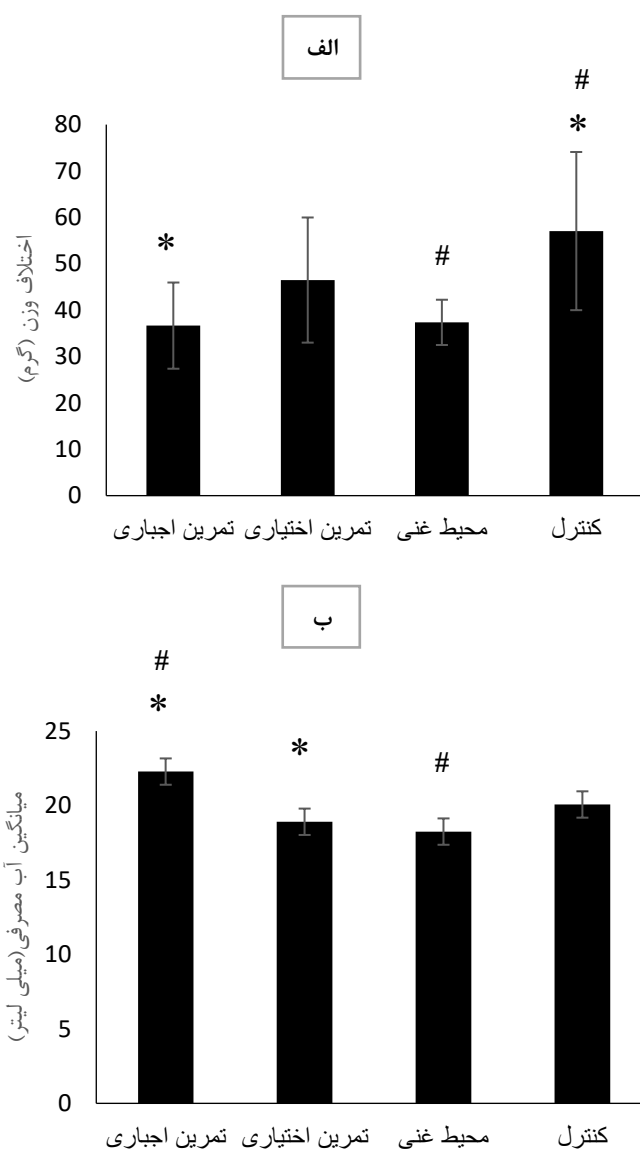
تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار آماری SPSS ویراست ۲۶ صورت گرفت. آزمون شاپیرو-ویلک و ویژگی‌های توزیع را تعیین کرد. همچنین برای سنجش تفاوت‌های بین‌گروهی از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه آنووا و به‌دنبال آن آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ مقادیر انحراف استاندارد در سطح معناداری $P < 0.05$ گزارش شدند.

نتایج

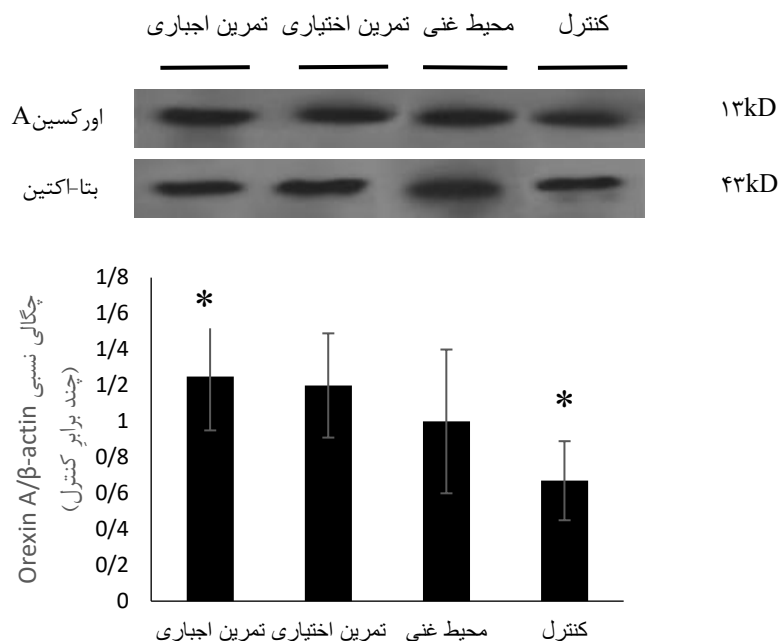
مطابق با شکل ۲-الف، نتایج آزمون آنووا تفاوت معناداری را در میزان تغییرات وزن بین گروه‌ها پس از سه هفته نشان داد ($F_{(3,56)} = 8.664$ ، $P < 0.001$). از آزمون تعقیبی بونفرونی برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. نشان داده شد بین گروه‌های کنترل با تمرین اجباری ($P < 0.001$) و گروه کنترل با گروه بازی در محیط غنی ($P < 0.001$) تفاوت معناداری وجود دارد که این میزان تغییرات برای گروه کنترل بیش از سایر گروه‌ها بود. همچنین

اورکسین A در بافت هیپوکمپ بین گروه‌ها نشان داد دیده شد ($F_{(3,56)} = 5/739$ ، $P = 0/022$) که این تفاوت بین گروه کنترل با گروه تمرین اجباری $P = 0/035$ بود، چگالی باند اورکسین A نسبت به بتا-اکتین- β) در actin در گروه تمرین اجباری $1/253 \pm 0/305$ ، در گروه تمرین اختیاری $1/206 \pm 0/29$ ، گروه بازی در محیط غنی $1 \pm 0/4$ و گروه کنترل $0/676 \pm 0/225$ بود (شکل ۴).

تفاوت معناداری در میانگین آب مصرفی بین گروه‌ها دیده شد ($F_{(3,56)} = 6/65$ ، $P < 0/001$). این تفاوت بین گروه‌های اختیاری با تمرین اجباری ($P = 0/004$) و گروه بازی در محیط غنی با گروه تمرین اجباری ($P < 0/001$) معنادار بود. بیشترین میزان دریافت آب در روز متعلق به گروه تمرین اجباری بود (شکل ۲-ب).
آزمون آنووا تفاوت معناداری را در سطح بیان



شکل ۲. (الف) میانگین تغییرات گروهی وزن موش‌های صحرایی نابالغ، $P < 0/001^*$ ، $P < 0/001^{\#}$ (ب) میانگین آب دریافتی موش‌های صحرایی نابالغ، $P = 0/004^*$ ، $P < 0/001^{\#}$. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ مقادیر انحراف استاندارد و طی سه هفته نمایش داده شده‌اند.



شکل ۳. تصاویر وسترن بلات و بیان اورکسین A در مقایسه با پروتئین مرجع بتا-اکتین (Orexin A/β-actin) پس از سه هفته نشان داده شده است. آزمون آنووا جهت ارزیابی تأثیرات ورزش بر بیان اورکسین A و به دنبال آن آزمون تعقیبی برای تشخیص تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. مقایسه گروه‌ها افزایش بیان پروتئین را با تمرین نشان می‌دهد به نحوی که چگالی باند اورکسین A نسبت به بتا-اکتین (β-actin) در گروه تمرین اجباری 1.25 ± 0.30 ، در گروه تمرین اختیاری 1.20 ± 0.29 ، گروه بازی در محیط غنی شده 1.0 ± 0.4 و گروه کنترل 0.65 ± 0.22 بود.

گذرانده شده در نواحی مرکز بین گروه‌های محیط غنی با گروه تمرین اجباری ($P=0.004$) و بین گروه محیط غنی و گروه اختیاری ($P=0.004$) تفاوت معناداری وجود داشت که در هر دو شاخص، رفتار شبه‌اضطراب بازی در محیط غنی کمتر از دو گروه اجباری و اختیاری بوده است. اما هیچ تفاوت معناداری بین گروه‌ها در فعالیت حرکتی عمومی ناشی از برنامه تمرینی وجود نداشت ($P > 0.05$). درصد عبور از مرکز و زمان گذرانده شده در مرکز با اضطراب همبستگی معکوس و وارونه دارند.

برای این منظور فعالیت حرکتی عمومی و رفتار شبه‌اضطرابی از طریق آزمون OFT ارزیابی شد (جدول ۳). نتایج آزمون آنووا تفاوت معناداری را در هر دو درصد تعداد عبور در نواحی مرکز ($F_{(3,24)} = 3.891$ ، $P = 0.021$) و درصد زمان گذرانده شده در نواحی مرکز ($F_{(3,24)} = 6.770$ ، $P = 0.002$) نشان داد. آزمون تعقیبی نشان داد این معناداری برای درصد عبور در نواحی مرکز بین گروه‌های محیط غنی با گروه تمرین اجباری ($P=0.035$) و بین گروه محیط غنی و گروه اختیاری ($P=0.042$) بود. همچنین برای درصد زمان

جدول ۳. نشانگرهای وابسته به اضطراب و فعالیت حرکتی عمومی

آزمون میدان باز	تمرین اجباری	تمرین اختیاری	محیط غنی شده	کنترل
درصد تعداد عبور در نواحی مرکز	160.1 ± 37.9 *	167.27 ± 71.65 **	25.54 ± 47.4	17.18 ± 7.32
درصد زمان گذرانده شده در نواحی مرکز (ثانیه)	77.2 ± 27.51 #	77.19 ± 27.69 #	14.21 ± 27.85	9.32 ± 47.86
مسافت کلی طی شده (متر)	$40.69 \pm 95.7/52$	$35.04 \pm 108.2/21$	$42.98 \pm 83.9/0.3$	$41.61 \pm 48.4/58$

تفاوت معنادار در سطح * $P=0.035$ ، ** $P=0.042$ و # $P=0.04$ با گروه غنی.

بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش، نتایج تغییرات وزن بدن، تفاوت معناداری را بین گروه غنی-کنترل و اجباری-کنترل نشان داد. همچنین تغییرات معناداری در آب مصرفی بین گروه‌های محیط غنی-تمرین اجباری و تمرین اختیاری-اجباری دیده شد. میزان اورکسین هیپوکمپ در گروه تمرین اجباری در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری بیشتر بود. این در حالی است که میزان اورکسین A در سایر گروه‌ها نیز افزایش داشت، اما معنادار نبود. نتایج آزمون میدان باز تفاوت معناداری را در فعالیت حرکتی عمومی نشان نداد، اگرچه در سنجش رفتارهای شبه اضطرابی تفاوت معناداری بین گروه‌ها بود. این تفاوت بین گروه‌های غنی-اختیاری و غنی-اجباری دیده شد؛ افزون بر این، نشان داده شد گروه تمرین اجباری اضطراب بیشتری نسبت به گروه‌های دیگر داشت، درحالی که دو گروه غنی و اختیاری اضطراب کمتری از خود نشان دادند.

با توجه به نتایج تغییرات وزن بدن، همراستا با این پژوهش، پژوهشی موش‌های صحرایی نر بالغ را به دو گروه زندگی در محیط کم جمعیت و محیط شلوغ تقسیم کرد. بر پایه یافته‌های این پژوهش، گروهی که در محیط شلوغ پرورش یافته بود تغییرات وزن کمتری داشت که این پدیده همیشه به واکنش تنش و استرس به ازدحام نسبت داده شده است. همچنین مهار افزایش وزن بدن، دست کم تا اندازه‌ای، به دلیل کاهش دریافت غذا ناشی از تشدید رقابت بین هموعان بر سر غذا در موش‌های پرورش یافته در محیط شلوغ است (۲۸). تمرین اجباری نسبت به گروه‌های دیگر با افزایش دریافت مایعات، کاهش آب بدن ناشی از تبخیر را طی دویدن به منظور حفظ دمای بدن جبران کرد (۲۸). در تحقیقی دیگر گزارش شد، موش‌های صحرایی طی ۱۲ هفته تمرین دویدن اجباری تغییرات

وزن بدن کمتری نسبت به گروه کنترل داشتند، این می‌تواند ناشی از شدت زیاد دویدن روی نوار گردان باشد که به افزایش سوخت و ساز منجر می‌شود (۲۹). همچنین به منظور بررسی تأثیر غنی‌سازی فیزیکی و اجتماعی بر رشد و نشانگرهای آنتروپومتریکی، موش‌های صحرایی نر نابالغ پرورش یافته در محیط غنی افزایش وزن آهسته‌تری در مقایسه با گروه غیرغنی داشتند که این ناشی از غنی‌سازی فیزیکی (اشیا)، تغییر سوخت و ساز و افزایش فعالیت در قفس گروه غنی بود (۳۰). در این باره نشان داده شده فعالیت بدنی به‌ویژه فعالیت‌های هوازی که بیشتر انرژی خود را از دستگاه هوازی و فسفوریلاسیون چربی‌ها در میتوکندری‌ها تأمین می‌کنند، موجب افزایش هزینه انرژی خروجی می‌شوند (۳۱). در انسان، از دست دادن اورکسین مغز سبب افزایش نمایه توده بدنی و در حیوانات، از دست دادن اورکسین مغز موجب کاهش فعالیت حرکتی و افزایش وزن بدن، با وجود کاهش رفتار تغذیه‌ای می‌شود (۳۲).

افزایش اورکسین ناشی از تمرینات ورزشی در پژوهش‌های دیگر نیز تأیید شده است. برای نمونه در تحقیقی سطح اورکسین A در سگ‌ها با بازی در حیاط به طور چشمگیری افزایش یافت که نشان می‌دهد دستگاه اورکسینرژیک شاید از طریق فعالیت حرکتی فعال شود (۳۳). همچنین در پژوهش دیگری گیرنده اورکسین در هیپوتالاموس جانبی موش‌های صحرایی مقاوم به چاقی با فعالیت بدنی خودبه‌خودی افزایش یافت (۳۲). و هشت هفته تمرین ورزشی هوازی سبب افزایش Orexin-A پلاسماتیک در انسان نیز شده است (۳۴). نشان داده شده نوروهای اورکسین می‌تواند بر هر دو مسیر مرکزی و محیطی HPA تأثیر بگذارد و نقش اساسی در پاسخ به استرس و تنش فراهم کند، همچنین یافته‌ها همبستگی قوی بین افزایش تحریک نوروهای اورکسین و انواع اضطراب را بیان می‌کند

(۳۵). هورمون اورکسین بهبود پاسخ مغز به لپتین، افزایش هزینه انرژی استراحتی و آثار ترموژنیک در بافت‌های بدن را در پی دارد، تون سمپاتیکی را افزایش و با فعال‌سازی دستگاه هیپوتالاموس-اورکسین می‌تواند فعالیت حرکتی را افزایش دهد و حالات وابسته به ترس را تشدید کند (۳۶). همچنین نورون‌های اورکسینرژیک به میزان PH خون بسیار حساس‌اند که در نتیجه کاهش PH خون با فعالیت بدنی شدید به ترشح بیشتر اورکسین از پایانه‌های نورون‌های اورکسینرژیک شده منجر است (۳۷).

در تحلیل نتایج آزمون میدان باز گروه‌ها در آزمایش OFT با افزایش سطح اورکسین، میزان اضطراب بیشتری را تجربه کردند. به‌ویژه، گروهی که تحت تمرین اجباری قرار گرفت، به دلیل افزایش بالاتر سطح اورکسین نسبت به سایر گروه‌ها، از بالاترین میزان اضطراب برخوردار بود که این نتایج تأییدکننده همبستگی معنادار بین سطح اورکسین، میزان فعالیت بدنی و احساسات اضطرابی است، برای این منظور می‌توان دو جنبه تنش و استرس فیزیولوژیکی و روانی را در نظر گرفت. طبق نتایج شدت و مدت تمرین می‌تواند در فعال‌سازی پاسخ‌های استرسی و تنش‌آفرین نقش مهم و ارزنده‌ای ایفا کند (۳۸) و قادر به افزایش میزان کورتیزول باشد (۳۹). در این زمینه، تحقیقی به بررسی رفتار شبه‌اضطرابی در دوران پیش از بلوغ موش‌های صحرایی نر نابالغ پرداخت. نتایج آزمون میدان باز نشان داد گروه فعالیت بدنی اختیاری در محیط غنی پس از سه هفته، اضطراب کمتری نسبت به گروه تمرین ترکیبی داشت (۲۶).

روی هم‌رفته می‌توان گفت فعالیت بدنی به افزایش میزان اورکسین A در هیپوکمپ موش‌های نابالغ منجر شد و این افزایش در تمرین اجباری بیش از سایر گروه‌ها بود. همچنین سطوح بالاتر اورکسین سبب افزایش بیشتر تنش و استرس در گروه تمرین

اجباری نسبت به سایر گروه‌ها شد. این پژوهش می‌تواند به درک بهتر از چگونگی تأثیرگذاری محیط و فعالیت بدنی بر فرایندهای یادگیری و توسعه شناختی کمک کند و نتایج آن می‌تواند در طراحی برنامه‌های آموزشی و درمانی در حوزه روانشناسی و علوم اعصاب به کار رود. با شناخت بهتر این ارتباطات، می‌توان به ایجاد شرایط مطلوب‌تری برای رشد و توسعه فردی و اجتماعی افراد در سنین مختلف دست یافت. در اجرای این پژوهش محدودیت‌هایی وجود داشت؛ از جمله عدم امکان اندازه‌گیری دقیق مسافت طی‌شده توسط حیوانات در محیط غنی بود. همچنین در گروه تمرین اختیاری بررسی سرعت دویدن موش‌های صحرایی درون قفس برای هر موش صحرایی و تمایز بین این سرعت و مسافت طی‌شده به صورت اختصاصی شدنی نبود. این محدودیت‌ها می‌توانند بر درک دقیق‌تر نتایج تأثیر بگذارند. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده افزون بر توجه بیشتر به این جوانب، سایر پروتئین‌های دخیل در دستگاه اورکسینرژیک اندازه‌گیری شوند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همه عزیزانی که در به پایان رساندن این پژوهش ما را یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌شود.

حمایت مالی

این پژوهش هیچ‌گونه حمایت مالی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در مفهوم‌سازی و طراحی پژوهش مشارکت داشتند. پیش‌نویس اولیه توسط فاطمه عرب طاهری‌زاده نگارش شد. تهیه، گردآوری و تحلیل داده‌ها توسط فاطمه عرب طاهری‌زاده، نرگس نوروزی، رعنا

Orexin neuropeptides modulate the hippocampal-dependent memory through basolateral amygdala interconnections. *Cereb Circ Cogn Behav*. 2022;3:100035.DOI:<https://doi.org/10.1016/j.cccb.2021.100035>

6. Zhuang C, Yan H, Lu J, Zhou Y, Liu Y, Shi G, et al. Compensatory enhancement of orexinergic system functionality induced by amyloid-beta protein: a neuroprotective response in Alzheimer's disease. *Front Physiol*. 2025;16:1529981.DOI:<https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1529981>
7. Treu SP, Plante DT. Cerebrospinal fluid orexin in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Med*. 2021;85:230–8.DOI:<https://doi.org/10.1016/j.sleep.2021.07.007>
8. Polito R, Monda V, Nigro E, Messina A, Di Maio G, Giuliano MT, et al. The Important Role of Adiponectin and Orexin-A, Two Key Proteins Improving Healthy Status: Focus on Physical Activity. *Front Physiol*. 2020;11:356.DOI:<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00356>
9. Messina G, Di Bernardo G, Viggiano A, De Luca V, Monda V, Messina A, et al. Exercise increases the level of plasma orexin A in humans. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2016;27(6):611–6.DOI:<https://doi.org/10.1515/jbcpp-2015-0133>
10. Han D, Shi Y, Han F. The effects of orexin-A and orexin receptors on anxiety- and depression-related behaviors in a male rat model of post-traumatic stress disorder. *J Comp Neurol*. 2022;530(3):592–606.DOI:<https://doi.org/10.1002/cne.25231>

فیاض میلانی و بهروز عبدلی انجام گرفت. فاطمه عرب طاهری زاده و رعنا فیاض میلانی در بررسی و ویرایش مقاله مشارکت داشتند. همه نویسندگان ویراست پایانی را خواندند و تأیید کردند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

1. Jansen K, Kiefer SM. Understanding brain development: Investing in young adolescents' cognitive and social-emotional development. *Middle School Journal*. 2020;51(4):18–25.DOI:<https://doi.org/10.1080/00940771.2020.1787749>
2. Mualem R, Morales-Quezada L, Farraj RH, Shance S, Bernshtein DH, Cohen S, et al. Econeurobiology and brain development in children: key factors affecting development, behavioral outcomes, and school interventions. *Front Public Health*. 2024;12:1376075.DOI:<https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1376075>
3. Srinivas NS, Vimalan V, Padmanabhan P, Gulyas B. An Overview on Cognitive Function Enhancement through Physical Exercises. *Brain Sci*. 2021;11(10):1289.DOI:<https://doi.org/10.3390/brainsci11101289>
4. Singh R, Biswas DA. Physiological Role of Orexin/Hypocretin in the Human Body in Motivated Behavior: A Comprehensive Review. *Cureus*. 2023;15(1):e34009.DOI:<https://doi.org/10.7759/cureus.34009>
5. Abounoori M, Maddah MM, Ardeshiri MR.

11. Han Y, Yuan K, Zheng Y, Lu L. Orexin Receptor Antagonists as Emerging Treatments for Psychiatric Disorders. *Neurosci Bull.* 2020;36(4):432–48. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12264-019-00447-9>
12. Al-Kuraishy HM, Abdulhadi MH, Hussien NR, Al-Niemi MS, Rasheed HA, Al-Gareeb AI. Involvement of orexinergic system in psychiatric and neurodegenerative disorders: A scoping review. *Brain Circ.* 2020;6(2):70–80. DOI: https://doi.org/10.4103/bc.bc_42_19
13. Bonaventure P, Dugovic C, Shireman B, Preville C, Yun S, Lord B, et al. Evaluation of JNJ-54717793 a Novel Brain Penetrant Selective Orexin 1 Receptor Antagonist in Two Rat Models of Panic Attack Provocation. *Front Pharmacol.* 2017;8:357. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00357>
14. Gagliano H, Ortega-Sanchez JA, Nadal R, Armario A. Psychostimulants and forced swim stress interaction: how activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stress-induced hyperglycemia are affected. *Psychopharmacology (Berl).* 2017;234(19):2859–69. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4675-9>
15. Grigsby KB, Kerr NR, Kelty TJ, Mao X, Childs TE, Booth FW. Acute Wheel-Running Increases Markers of Stress and Aversion-Related Signaling in the Basolateral Amygdala of Male Rats. *J Funct Morphol Kinesiol.* 2022;8(1):6. DOI: <https://doi.org/10.3390/jfmk8010006>
16. Yaruskina N, Zenko MY, Morozova OY, Komkova O, Baranova K, Zhuikova S, et al. The influence of social isolation and enriched environment on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis, pain sensitivity, and behavior in rats after exposure to an ulcerogenic stressor. *Rossiiskij fiziologičeskij žurnal im IM Sečenova.* 2024;110(9):1510–28. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869813924090162>
17. Lu J, Li X, Wang L, Fan J, Zhang Y, Lu X, et al. Effects of different-intensity swimming exercises on spatial learning and memory ability and the expression of Orexin A in the rat cerebellum. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research.* 2021;25(23):3697. DOI: <https://doi.org/10.12307/2021.042>
18. Haskell-Luevano C, Schaub JW, Andreasen A, Haskell KR, Moore MC, Koerper LM, et al. Voluntary exercise prevents the obese and diabetic metabolic syndrome of the melanocortin-4 receptor knockout mouse. *FASEB J.* 2009;23(2):642–55. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.08-109686>
19. Niswender KD, Magnuson MA. Obesity and the beta cell: lessons from leptin. *J Clin Invest.* 2007;117(10):2753–6. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI33528>
20. Martins PJ, D'Almeida V, Pedrazzoli M, Lin L, Mignot E, Tufik S. Increased hypocretin-1 (orexin-a) levels in cerebrospinal fluid of rats after short-term forced activity. *Regul Pept.* 2004;117(3):155–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2003.10.003>
21. Parastesh M, Saremi A. The Effect of Endurance and Resistance Training on

- Serum Level of Orexin A, Lipid Profiles and Food Intake in Male Rats: An Experimental Study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*. 2019;17(12):1143–54. DOI: <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.17353165.1397.17.12.7.8>
22. Droste SK, Chandramohan Y, Hill LE, Linthorst AC, Reul JM. Voluntary exercise impacts on the rat hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis mainly at the adrenal level. *Neuroendocrinology*. 2007;86(1):26–37. DOI: <https://doi.org/10.1159/000104770>
 23. Control CftPo, Animals SoEo. CPCSEA guidelines for laboratory animal facility. *Indian J Pharmacol*. 2003;35(4):257–74
 24. Huang AM, Jen CJ, Chen HF, Yu L, Kuo YM, Chen HI. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *J Neural Transm (Vienna)*. 2006;113(7):803–11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00702-005-0359-4>
 25. Gomes da Silva S, Unsain N, Masco DH, Toscano-Silva M, de Amorim HA, Silva Araujo BH, et al. Early exercise promotes positive hippocampal plasticity and improves spatial memory in the adult life of rats. *Hippocampus*. 2012;22(2):347–58. DOI: <https://doi.org/10.1002/hipo.20903>
 26. Rostami S, Haghparast A, Fayazmilani R. The downstream effects of forced exercise training and voluntary physical activity in an enriched environment on hippocampal plasticity in preadolescent rats. *Brain Res*. 2021;1759:147373. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147373>
 27. Stranahan AM, Khalil D, Gould E. Social isolation delays the positive effects of running on adult neurogenesis. *Nat Neurosci*. 2006;9(4):526–33. DOI: <https://doi.org/10.1038/nn1668>
 28. Armario A, Ortiz R, Balasch J. Effect of crowding on some physiological and behavioral variables in adult male rats. *Physiol Behav*. 1984;32(1):35–7. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(84\)90066-0](https://doi.org/10.1016/0031-9384(84)90066-0)
 29. Ang ET, Dawe GS, Wong PT, Mookhala S, Ng YK. Alterations in spatial learning and memory after forced exercise. *Brain Res*. 2006;1113(1):186–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.023>
 30. Zaias J, Queeney TJ, Kelley JB, Zakharova ES, Izenwasser S. Social and physical environmental enrichment differentially affect growth and activity of preadolescent and adolescent male rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2008;47(2):30–4
 31. Gorostegi-Anduaga I, Corres P, Martinez-Aguirre-Betolaza A, Perez-Asenjo J, Aispuru GR, Fryer SM, et al. Effects of different aerobic exercise programmes with nutritional intervention in sedentary adults with overweight/obesity and hypertension: EXERDIET-HTA study. *Eur J Prev Cardiol*. 2018;25(4):343–53. DOI: <https://doi.org/10.1177/2047487317749956>
 32. Kotz CM, Teske JA, Billington CJ. Neuroregulation of nonexercise activity thermogenesis and obesity resistance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294(3):R699–710. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00095.2007>
 33. Wu MF, Nienhuis R, Maidment N, Lam HA, Siegel JM. Cerebrospinal fluid hypocretin

- (orexin) levels are elevated by play but are not raised by exercise and its associated heart rate, blood pressure, respiration or body temperature changes. *Arch Ital Biol.* 2011;149(4):492–
8.DOI:<https://doi.org/10.4449/aib.v149i4.1315>
34. Chieffi S, Messina G, Villano I, Messina A, Esposito M, Monda V, et al. Exercise Influence on Hippocampal Function: Possible Involvement of Orexin-A. *Front Physiol.* 2017;8:85.DOI:<https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00085>
35. James MH, Campbell EJ, Dayas CV. Role of the Orexin/Hypocretin System in Stress-Related Psychiatric Disorders. *Curr Top Behav Neurosci.* 2017;33:197–219.DOI:https://doi.org/10.1007/7854_2016_56
36. Chieffi S, Carotenuto M, Monda V, Valenzano A, Villano I, Precenzano F, et al. Orexin System: The Key for a Healthy Life. *Front Physiol.* 2017;8:357.DOI:<https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00357>
37. Williams RH, Jensen LT, Verkhatsky A, Fugger L, Burdakov D. Control of hypothalamic orexin neurons by acid and CO₂. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(25):10685–
90.DOI:<https://doi.org/10.1073/pnas.0702676104>
38. Moraska A, Deak T, Spencer RL, Roth D, Fleshner M. Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000;279(4):R1321–
9.DOI:<https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.279.4.R1321>
39. Makatsori A, Duncko R, Schwendt M, Moncek F, Johansson BB, Jezova D. Voluntary wheel running modulates glutamate receptor subunit gene expression and stress hormone release in Lewis rats. *Psychoneuroendocrinology.* 2003;28(5):702–
14.DOI:[https://doi.org/10.1016/s0306-4530\(02\)00062-8](https://doi.org/10.1016/s0306-4530(02)00062-8)