

**VOIMAHARJOITTELUN VAIKUTUS UUSIEN HERMOSOLUJEN
SÄILYMISEEN HIPPOKAMPUKSESSA AIKUISILLA
NISÄKKÄILLÄ**

**Niina Lukkarila
Pro gradu -tutkielma
Psykologian laitos
Jyväskylän yliopisto
Elokuu 2016**

Lukkarila, Niina: Voimaharjoittelun vaikutus uusien hermosolujen säilymiseen hippokampusessa aikuisilla nisäkkäillä

Pro gradu -tutkielma, 31 s.

Ohjaaja: Miriam Nokia

Psykologia

Elokuu 2016

Aerobinen harjoittelu vaikuttaa positiivisesti hippokampuksen uusien hermosolujen syntymiseen ja selviytymiseen. Lisääntyneen neurogeneesin on tutkittu vaikuttavan aivojen rakenteisiin ja toimintaan, muun muassa tehostamalla muistin ja oppimisen toimintoja. Tässä tutkimuksessa käytetyllä voimaharjoittelulla on myös tutkittu olevan positiivinen vaikutus kognitiivisiin toimintoihin. Nyt tutkittiin aikuisilla nisäkkäillä suoritetun progressiivisen voimaharjoittelun vaikutuksia hippokampuksen pykäläpoimun uusien hermosolujen säilymiseen. Lisäksi tutkittiin onko voimaharjoittelulla vaikutusta paikkamuistiin.

Tutkimuksen koe-eläiminä käytettiin sukukypsiä Sprague-Dawley rottia (n = 20), jotka jaettiin satunnaisella valinnalla koeryhmään (n = 10) ja kontrolliryhmään (n = 10). Koeryhmään kuuluneet eläimet suorittivat kahdeksan viikon progressiivisen voimaharjoitteluintervention. Kontrolliryhmään kuuluneet eläimet viettivät harjoitusajan pleksilaatikossa harjoitushuoneessa. Molemmat ryhmät suorittivat niiden spontaania mieltymystä uusia esineitä kohtaan mittaavan paikkamuistitehtävän, ennen ja jälkeen voimaharjoittelujakson. Solut, jotka syntyivät ensimmäisen harjoitusviikon aikana, merkittiin bromodeoxyuridine (BrdU) -merkkiaineella. BrdU yhdistyy jakautuvien solujen perimään, jolloin uusia hermosoluja voidaan tarkastella mikroskoopilla.

Tilastollisina menetelminä käytettiin riippumattomien otosten t- testiä, Mann Whitney U -testiä sekä Pearsonin korrelaatiokertoimen testausta.

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää voiko voimaharjoittelua käyttää tehokkaana keinona neurogeneesin lisäämiseen ja kognitiivisten toimintojen tehostamiseen. Tutkimuksen perusteella voimaharjoitteluinterventio ei lisännyt uusien hermosolujen hengissä säilymistä tilastollisesti merkitsevästi. Ennen voimaharjoittelua ja sen jälkeen suoritetussa paikkamuistitehtävässä ei saatu tilastollisesti merkitseviä eroja.

Avainsanat: voimaharjoittelu, aerobinen harjoittelu, hippokampus, pykäläpoimu, neurogeneesi, BrdU, muisti ja oppiminen, avaruudellinen muisti

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	1
1.1 Neurogeneesi eli hermosolujen uusiutuminen	1
2.1 Fyysisen aktiivisuuden vaikutus aivojen terveyteen	2
3.1 Fyysisen aktiivisuuden vaikutus oppimiseen ja muistiin	4
4.1 Oppimisen vaikutus uusien hermosolujen selviytymiseen	5
6.1 Tutkimuksen tavoitteet	7
2 MENETELMÄT	8
2.1 Koe-eläimet ja olosuhteet	8
2.2 Voimaharjoittelu	8
2.3 Paikkamuistitehtävä	9
2.4 Bromodeoxyuridiini (BrdU)	11
2.5 Aivonäytteiden leikkaus	11
2.6 Immunohistokemiallinen värjäys	12
2.7 Aineiston analysointi	13
2.8 Tilastolliset menetelmät	15
3 TULOKSET	15
3.1 Voimaharjoittelun vaikutukset	15
3.2 Uusien hermosolujen hengissä säilyminen	16
3.3 Paikkamuistitehtävä	18
3.4 Uusien hermosolujen ja paikkamuistin korrelaatio	21
4 POHDINTA	21
4.1 Voimaharjoittelun vaikutus uusien hermosolujen säilymiseen	21
4.2 Voimaharjoittelun vaikutus paikkamuistitehtävän oppimiseen	22
4.3 Uusien hermosolujen vaikutus paikkamuistitehtävän oppimiseen	23
4.4 Miksi tutkimus on tarpeen	24
4.5 Johtopäätökset	25
LÄHTEET	26

1 JOHDANTO

1.1 Neurogeneesi eli hermosolujen uusiutuminen

Aktiivinen neurogeneesi eli solujen uusiutuminen tapahtuu kahdella erillisellä neurogeenisellä alueella: hippokampuksen pykäläpoimussa (dentate gyrus) sekä etuaivojen lateraalisten aivokammioiden seinämissä, josta ne vaeltavat hajukäämeihin. Neurogeneesi on prosessi, jossa hermostollisista kantasoluista syntyy hermosoluja, jotka kykenevät erilaistumaan eri solutyypeiksi. Neurogeneesi on aktiivisinta syntymää edeltävänä ajanjaksona, mutta sen on tutkittu jatkuvan koko ihmisen eliniän (Altman & Das, 1965; Eriksson ym., 1998; Gould, Beylin, Tanapat, Reeves, & Shors, 1999; Kaplan & Hinds, 1977). Näillä uusilla hermosoluilla on ehdotettu olevan keskeisen rooli tietyissä aivotoiminnoissa, kuten oppimisessa ja muistin toiminnoissa, hajuaistissa sekä mielialojen säätelyssä (Duan, Kang, Liu, Ming, & Song, 2008). Hermosolujen uusiutumisessa on kaksi vaihetta; solut syntyvät ja ne otetaan osaksi hermoverkostoa. Pykäläpoimussa uudet hermosolut ovat ryhmittyneet lähelle verisuonistoa, hiluksen ja jyväsolukerroksen väliin, ja ensimmäisten viikkojen aikana uudet hermosolut vaeltavat pykäläpoimun reunalta syvempiin osiin, missä ne kypsyvät ja liittyvät osaksi hermoverkostoa (Ahlskog, Geda, Graff-Radford, & Petersen, 2011; Shors, 2009). Jos soluja tarvitaan, ne pysyvät hengissä. Kuitenkin merkittävä osa näistä uusista hermosoluista kuolee vain muutaman viikon kuluessa syntymästä (Curlik & Shors, 2011).

Aikuisten aivojen neurogeneesin määrään vaikuttavat merkittävästi erilaiset tekijät. Solujen jakaantumista edistävät muun muassa liikunta, kahvi ja seksi, kun taas epäterveelliset toiminnot kuten, stressi ja univaje, estävät solujen jakaantumista. Viimeaikaiset tulokset ovat osoittaneet fyysisen harjoittelun ja oppimisen tehostavan uusien neuronien muodostumista ja eloonjäämistä hippokampuksen pykäläpoimussa (Shors, 2009 & 2012; Van Praag, Kempermann, & Gage 1999; Churchill ym., 2002). Pykäläpoimun tiedetään olevan tärkeässä roolissa tunnistettaessa toisiaan läheisesti muistuttavia asioita tai erotettaessa ympäristöjä toisistaan ja oletetaan, että neurogeneesi edistäisi tämän tehtävän optimaalisessa suorittamisessa (Clelland ym., 2009; Kesner, Lee, & Gilbert, 2004). Kuitenkin osaltaan on vielä tuntematonta kuinka neurogeneesi vaikuttaa hippokampuksen toimintaan (Aimone, Deng, & Gage, 2010; Clelland ym., 2009).

Uusien hermosolujen lisääntymistä aikuisten jyrsijöiden pykäläpoimussa voidaan tutkia BrdU (bromodeoxyuridine) -värjäysaineella ulkoapäin. BrdU immunohistokemian avulla on pystytty

vahvistamaan neurogeneesin tapahtuminen aikuisen nisäkkään sekä ihmisen aivoissa. BrdU yhdistyy jakautuvien solujen perimään ja se on yleisesti käytetty merkkiaine havaitsemaan lisääntyviä soluja elävässä kudoksessa. Värjäysaine merkitsee vastasyntyneen solun ja kudoksen värjätään niin, että niitä voidaan tarkastella mikroskoopilla (Shors, 2009; Taupin, 2007).

2.1 Fyysisen aktiivisuuden vaikutus aivojen terveyteen

Elämäntapatekijät ovat merkittävässä roolissa siinä miten hyvin ihminen ikääntyy. Niistä säännöllinen fyysinen aktiivisuus on yksi tärkeä tekijä ja se esiintyy kahdessa eri harjoittelumuodossa; aerobinen harjoittelu, kuten juokseminen sekä voimaharjoittelu, kuten painojen nostaminen (Bherer, Erickson, & Liu-Ambrose, 2013; Liu-Ambrose, Nagamatsu, Voss, Khan, & Handy 2012). Liikunta suojaa kehoa ja aivoja ikääntymisen epäsuotuisilta vaikutuksilta, kuten kognitiivisilta häiriöiltä, sydän- ja verisuonisairauksilta, aineenvaihdunnan häiriöiltä sekä muilta kroonisilta sairauksilta läpi eliniän. Aerobisella liikunnalla on todettu olevan terveydellisiä hyötyjä aivojen rakenteisiin ja toimintaan (Churchill ym., 2002). Tutkimuksessa, jossa keski-ikäiset ja sitä vanhemmat ihmiset suorittivat neljän kuukauden aerobisen harjoitteluohjelman, osoittivat hengitys- ja verenkiertoelimistön parantuneita toimintoja. Parantuneita suorituksia aerobisen harjoittelujakson jälkeen on saatu myös kahden päällekkäisen tehtävän samanaikaisessa suorittamisessa, tehtävästä toiseen vaihtamisessa, liikkeiden koordinaatioissa sekä aikatauluttamisessa ja suunnittelussa. Yli 50 vuotiaiden ja sitä vanhempien säännöllisen, vähintään kerran viikossa tapahtuvan fyysisen harjoittelun, on todettu ehkäisevän kognitiivisia rappeutumia vielä 2,5 vuoden jälkeen (Bherer, Erickson, & Liu-Ambrose 2013; Colcombe & Kramer, 2003).

Siinä missä kestävyysharjoittelua, myös voimaharjoittelua tulisi harkita kognitiivisten toimintojen potentiaalisena muokkaajana ikääntyvillä ihmisillä. Siinä missä voimaharjoittelu hyödyttää lihaksistoa, se vaikuttaa positiivisesti myös ikääntyviin aivoihin ja kognitioon (Bherer, Erickson & Liu-Ambrose 2013; Liu-Ambrose ym., 2012). Kuuden kuukauden, joko kolmesti viikoittain tapahtuvan kohtuullisen voimaharjoittelun tai korkean intensiteetin voimaharjoittelun, on todettu parantavan muistitoimintojen suorittamista ja sanallista käsitteenmuodostusta 65–75-vuotiailla miehillä (Cassilhas ym., 2007). Yksilöidyllä voimaharjoittelu- ja tasapainopohjaisilla kotiharjoitteisiin perustuvilla ohjelmilla on saatu merkitseviä parannuksia 70-vuotiailla tai sitä vanhemmilla henkilöillä vielä kuuden kuukauden jälkeen. Kaksitoista kuukautta kestävä, joko kerran tai kaksi kertaa viikossa tapahtuva jatkuva voimaharjoittelu, edisti valikoivaa

tarkkaavaisuutta, ongelmanratkaisukykyä sekä lisäsi kävelynopeutta (Liu-Ambrose ym., 2008). Lisäksi voimaharjoittelulla oli positiivisia vaikutuksia aivokuoren funktionaaliseen plastisuuteen (Liu-Ambrose ym., 2012).

Fyysinen aktiivisuus on yhdistetty hippokampuksen neurogeneesiin, sekä ihmisillä ja nisäkkäillä. Neurogeneesin lisäksi, fyysisen harjoittelun on todettu lisäävän aivojen synaptista plastisuutta sekä kasvattavan hippokampuksen tilavuutta (Van Praag, Christie, Sejnowski, & Gage, 1999; Vivar, Potter, & van Praag, 2013; Voss, Vivar, Kramer, & van Praag, 2013). Vapaaehtoisen juoksuharjoittelun havaittiin johtavan lisääntyneeseen solujen jakaantumiseen, hermosolujen erilaistumiseen sekä kaksinkertaistavan uusien solujen selviytymisen aikuisten hiiren hippokampuksen pykäläpoimussa (Van Praag, Kempermann, & Gage, 1999). Vapaaehtoisen ja pakotetun juoksemisen on tutkittu kasvattavan merkittävästi pykäläpoimun kestokorostumista (long-term potentiation, LTP), jolloin uusien solujen verkostoituminen saattaa parantua ja viestin kulku kahden solun välillä tehostua (Bliss & Collingridge, 1993). Aerobisissa ja voimaharjoittelututkimuksissa löydetyt tulokset tukevat olettamusta, jossa uusilla jyväsoluilla on ainutlaatuinen rooli hippokampuksen synaptisessa plastisuudessa ja niiden merkittävyttä voidaan lisätä liikunnan avulla (Vivar ym., 2013).

Kaikissa tutkimuksissa ei kuitenkaan ole saatu merkitseviä vaikutuksia neurogeneesiin ja kognitioon fyysisen harjoittelun seurauksena, joten mekanismit, jotka toimivat näiden muutosten takana, eivät ole vielä täysin tiedossa. On ehdotettu, että harjoittelu parantaisi kognitiivista toimintaa epäsuorasti vaikuttamalla terveydellisiin olosuhteisiin, kuten stressiin, unenlaatuun, kroonisiin sairauksiin ja mielentilaan, sekä ehkäisemällä sepelvaltimo sairauksia, jotka vaikuttavat heikentävästi neurokognitiiviseen toimintaan. Fyysinen harjoittelu kohentaa mielentilaa, joka taas ennalta ehkäisee masennusta, ahdistusta, kroonista stressiä sekä kehittää luottamusta omiin kykyihin (Bherer, Erickson, & Liu-Ambrose 2013). Suuressa osassa tutkimuksia uskotaan, että fyysisten harjoitusten vaikutukset aivojen terveyteen ovat suorassa yhteydessä sen biologisiin vaikutuksiin. Yksi vaikuttava tekijä liittyy hermokasvutekijöihin, joiden uskotaan välittävän liikunnan neurologisia vaikutuksia aivoissa (Voss ym., 2013). On esitetty, että kaikkien hermosolujen tuotanto on riippuvainen hermokasvutekijöiden tuesta, ei vain kehittymisen ja hengissä säilymisen suhteen, vaan ne ovat jatkuvasti läsnä aikuisessa hermoverkostossa.

Aivoperäinen hermokasvutekijä eli BDNF (brain derived neurotrophic factor) on tärkeässä roolissa neuroplastisuudessa ja hermosolujen säilymisessä (Bherer, Erickson, & Liu-Ambrose, 2013; Huang and Reichardt, 2001) ja sillä on merkittävä rooli kestokorostumisessa (LTP) (Korte

ym., 1995 & 1996; Patterson ym., 1996). Lisäksi BDNF toimii lisäävänä tekijänä insuliinin kaltaisen kasvutekijän eli IGF-1 (insulin-like growth factor) muodostumisessa, joka taas on osallisena neurogeneesissä ja angiogeneesissä, sekä sillä on voimakas inhiboiva vaikutus solukuolemiin (Bherer, Erickson & Liu-Ambrose 2013). IGF-1 oletetaan vaikuttavan myös lihasten liikakasvuun sekä lihasten kasvuun voimaharjoittelun tuloksena (Borst ym., 2001). On tuloksia siitä, että BDNF ja IGF-1 voivat toimia yhdessä tai peräkkäin joka edistäisi hermosolujen erilaistumista (Van Praag ym., 1999). Fyysisen harjoittelun on tutkittu kasvattavan tärkeiden hermokasvutekijöiden tasoja aivoissa, jonka johdosta aivojen lisääntynyt suorituskyky ja joustavuus näyttäytyvät parantuneessa oppimiskyvyssä sekä suorituksessa aikuisilla eläimillä (Colcombe ym., 2004). Jyrsijöiden altistaminen juoksupyöräharjoittelulle seitsemän päivän ajan kasvatti BDNF hermokasvutekijän esiintyvyyttä hippokampuksessa (Neeper, Gomezpinilla, Choi, & Cotman, 1995), joka puolestaan lisäsi hermosolujen selviytymistä, synaptista kehittymistä ja joustavuutta (Cotman & Engesser-Cesar, 2002; Ernfors, Lee & Jaenisch, 1994; Lu & Chow, 1999). Ihmisille suoritetuissa voimaharjoittelututkimuksissa, voimaharjoittelun todettiin nostavan IGF-1 tasoa veressä ja hippokampuksessa, jonka tason nousuun aerobisella harjoittelulla näytti olevan vain vähän tai ei ollenkaan vaikutusta (Borst ym., 2001; Cassilhas, Antunes, Tufik, & De Mello, 2010). Onkin johdonmukaista arvella, että nämä solu, molekyyli ja neurokemialliset muutokset, jotka on havaittu rotilla ja hiirillä vasteena liikuntainterventioihin, voivat toimia taustalla tarkasteltaessa kehitystä kognitiivisissa ja motoristisissa toiminnoissa aikuisilla ihmisillä (Colcombe & Kramer, 2003).

3.1 Fyysisen aktiivisuuden vaikutus oppimiseen ja muistiin

Juoksemisen ja virikkeellisen ympäristön, on havaittu kaksinkertaistavan uusien hermosolujen selviytymisen jyrsijöillä, mutta lisäksi niiden on tutkittu tehostavan muistin ja oppimisen prosesseja. Aerobisen harjoittelun tiedetään aktivoivan hippokampusta, aivojen osaa, joka vastaa keskeisistä oppimisen prosesseista sekä avaruudellisen tiedon prosessoinnista. Ihmisillä aerobisen harjoittelun on havaittu kasvattavan hippokampuksen tilavuutta, jonka johdosta muistin toiminnot tehostuivat (Erickson ym., 2009 & 2011). Jyrsijöiden muistia ja oppimista mittaavilla käyttäytymistesteillä on kyetty osoittamaan etenkin hippokampuksen dorsaalisen osan ensisijainen rooli avaruudellisen muistin toiminnoissa (Bannerman ym., 2004). Myös hormoneille, esimerkiksi estrogeenille altistaminen kasvattaa solutuotantoa ja parantaa muistisuorituksia. Vastavuoroisesti solutuotantoa vähentävät tekijät, kuten kortikosteroni, stressi ja ikääntyminen, ovat yhdistetty heikentyneisiin

muistisuorituksiin avaruudellista muistia mittaavissa tehtävissä (Van Praag ym., 1999; Vivar ym., 2013).

Aerobinen harjoittelu voi ennaltaehkäistä hermosyntyisiä sairauksia sekä viivyttää ikään liittyvää kognitiivista rappeutumista (Vivar ym., 2013). Myös voimaharjoittelun on esitetty vaikuttavan positiivisesti kognitiiviseen toimintakykyyn ja se voi olla tehokas harjoitusmuoto muistin ja oppimisen tehostamiseen henkilöillä, joilla kognitiivisten toimintojen heikkeneminen on alkanut (Cassilhas ym., 2012; Nagamatsu ym., 2013). Harjoittelun neurokognitiiviset hyödyt ovat havaittavissa jo suhteellisen lyhyen ajan jälkeen, noin kuuden kuukauden kuluessa (Colcombe ym., 2004). Ihmiset, jotka suorittivat kuuden kuukauden aerobisen harjoittelujakson tai voimaharjoittelujakson, osoittivat parantuneita suorituksia spatiaalisen muistin toiminnoissa haastavissa tilanteissa, joissa vaatimuksena oli muistaa kolmen esineen avaruudellinen sijainti (Nagamatsu ym., 2013). Ikääntyneille naisille suoritettu 12 kuukauden, kerran tai kaksi kertaa viikossa tapahtuva progressiivinen voimaharjoittelujakso paransi valikoivaa tarkkaavaisuutta ja ristiriitatilanteiden ratkaisua sekä johti aivokuoren toiminnallisiin muutoksiin. Yllättäen myös aivojen kokonaisvolyymi pieneni hiukan molemmilla ryhmillä. Vaikka aivojen tilavuuden pientyminen on yleisesti liitetty toimintojen heikentymiseen, tutkimuksessa molempien ryhmien kognitiivisten toimintojen suorituskyky parani Stroop -testillä mitattaessa (Liu-Ambrose ym., 2010). On vielä selvitettävä, mitkä ovat ne taustalla toimivat itsenäiset tekijät, jotka käynnistävät juoksuharjoittelun seurauksena kasvaneen synaptisen plastisuuden ja tehostuneen oppimisen, tai toimivat epäsuorasti tukemalla uusien hermosolujen henkiinjäämistä ja linkittymistä hermoverkostoihin (Van Praag ym., 1999). Myös oppiminen itsessään saattaa olla laukaiseva tekijä neurogeneesin kasvussa sekä uusien hermosolujen selviytymisessä (Gould ym. 1999).

4.1 Oppimisen vaikutus uusien hermosolujen selviytymiseen

Ikään liittyvä kognitiivinen heikkeneminen saattaa johtua pykäläpoimun vähentyneestä neurogeneesistä ja joustavuudesta (Drapeau ym., 2003; Van Praag ym., 1999; van Praag, Shubert, Zhao, & Gage, 2005). Vaikka hippokampuksen rooli oppimisen ja muistin toiminnoissa on melko hyvin tunnettu, siellä tuotettujen uusien hermosolujen rooli on vähemmän ymmärretty (Waddell & Shors, 2008). Onko oppimisella vaikutusta neurogeneesin voimakkuuteen tai vaikuttaako neurogeneesi tai sen väheneminen kykyyn oppia, ovat olleet tutkimuksen kohteina viimeisen vuosikymmenen aikana (Shors, 2008). Tutkimustulokset ovat osoittaneet vastasyntyneiden

hermosolujen vaikuttavan hippokampuksesta riippuvaisen muistin muodostumiseen ja lisäksi olevan osa sitä (Shors ym., 2001). Näiden uusien solujen yhteydet jo olemassa oleviin neuroneihin eivät ainoastaan vaikuta hippokampuksen toimintaan, vaan oletettavasti ne vaikuttavat synaptiseen ja neuronaaliseen aktiivisuuteen aivojen eri osissa. Uusien hermosolujen on ehdotettu varastoituvan ja vaikuttavan myöhemmissä oppimiskokemuksissa sekä monimutkaisten tehtävien hallinnassa. Hermoverkostoihin linkittyneitä kypsyneitä soluja käytetään oletettavasti hienosäätämään tai parantamaan ongelmanratkaisukykyjä, jotka ovat jo ennalta olemassa. Ne aktivoitunevat vain valikoiduissa tilanteissa, nähtävästi tilanteissa, jotka vaativat kognitiivista ponnistelua.

Suurimmaksi osaksi rotilla tehdyt tutkimukset ovat osoittaneet, että pykäläpöimussa syntyneet uudet hermosolut pysyvät hengissä sitä paremmin, mitä haastavampaa tehtävää opetellaan (Shors, 2009). On havaittu, että niiden selviytyminen on erityisen herkkä oppimiselle ja merkittävä osa uusista hermosoluista voidaan pelastaa kuolemalta altistamalla ne hippokampusvälitteiselle oppimistehtävälle (Gould ym., 1999; Waddell & Shors, 2008). Tehtävän harjoittelu yksin ei pelasta uusia hermosoluja, vaan se edellyttää että oppimisprosessi on uusi, tarpeeksi haastava tai sen oppiminen vie enemmän aikaa sekä oppiminen tapahtuu onnistuneesti ja samanaikaisesti tehtävän harjoittelun kanssa. Tehtävät, joissa tapahtuu ponnistelua, saattavat aktivoida voimakkaammin hermoverkostoja, joissa nämä uudet hermosolut sijaitsevat. Tämän hippokampuksen pitkäkestoisen aktivaation on ehdotettu olevan yksi kriittinen tekijä, joka tehostaisi oppimisen vaikutusta solujen säilymiseen (Waddell & Shors, 2008). Eläimet, joilla tapahtui eniten hippokampuksen aktivaatiota oppivat tehtävän parhaiten (Shors, 2009). Myös tehtävän hitaalla omaksumisella on näyttänyt olevan vaikutusta uusien hermosolujen säilymiseen. Eläimiltä, jotka oppivat tehtävän onnistuneesti, mutta vasta useamman toiston jälkeen, pelastui enemmän vastasyntyneitä hermosoluja, verrattuna eläimiin, jotka saavuttivat nopeasti saman oppimisvasteen tai eivät useiden/samojen toistomäärien jälkeenkään oppineet tehtävää. Tehtävän hidas omaksuminen yksin ei ole kuitenkaan riittävä kasvattamaan uusien hermosolujen selviytymistä merkitsevästi, vaan se on riippuvainen hippokampusvälitteisestä yhteydestä (Dalla, Bangasser, Edgecomb & Shors, 2007; Gould ym., 1999; Waddell & Shors, 2008). Hippokampusvälitteisiä oppimistehtäviä pidetään haastavampina, kuin niiden vastineita, jotka eivät vaadi hippokampuksen aktivaatiota. Myöhemmin tosin on todettu, että hippokampusvälitteinen riippuvuus ei ole välttämätön eikä riittävä tekijä määriteltäessä tehtävän soveltuvuutta ja myös ei-hippokampusvälitteisten tehtävien on havaittu pelastavan uusia hermosoluja kuolemalta (Shors, Anderson, Curlik & Nokia, 2012).

Harjoittelu ja/tai oppiminen ei vaikuta harjoituksen aikana tai sen jälkeen syntyneiden solujen lukumäärään, eikä harjoituksen aikana syntyvien uusien solujen lukumäärä ennusta miten hyvin

eläin oppii. Tehtävän suorittaneilla eläimillä harjoituksen aikana syntyvät solut selviytyivät epätodennäköisemmin verrattuna eläimiin, jotka eivät harjoitelleet lainkaan (Anderson, Sisti, Curlik, & Shors, 2011; Nokia, Sisti, Choksi, & Shors, 2012). Hippokampuksen uudet hermosolut ovat erityisen vastaanottavia uusille oppimiskokemuksille, mutta eivät välttämättä uudelleen oppimiseen tai harjoitukseen jo hankitussa taidossa. Lisäksi vaikutukset näkyvät selviämisen näkökulmasta eivätkä solujen jakaantumisenä (Nokia ym., 2012). Oppiminen kasvattaa uusien hermosolujen säilymistä vain solun tietyn kypsyminenvaiheen aikana, jolloin solu erilaistuu nuoreksi neuroniksi harjoituksen lopussa. Oppiminen, joka tapahtuu harjoituksen aikana ja solujen tietyssä kehitysvaiheessa, 1-2 viikon ikäisinä, mahdollistaa niiden henkiinjäämisen. Tätä nuoremmat tai vanhemmat solut eivät selviydy (Anderson ym., 2011; Shors ym., 2009 & 2012).

6.1 Tutkimuksen tavoitteet

Tässä tutkimuksessa pyrimme selvittämään vaikuttaako voimaharjoittelu uusien hermosolujen säilymiseen hippokampuksessa aikuisten nisäkkäiden aivoissa. Aiemmissä tutkimuksissa aerobisena harjoittelumuotona on käytetty juoksuharjoittelua. Näissä tutkimuksissa juoksuharjoittelun on tutkittu vaikuttavan positiivisesti neurogeneesiin, solujen säilymiseen sekä kognitiivisiin toimintoihin (van Praag ym., 1999; Vivar ym., 2013). Tässä tutkimuksessa harjoitusmenetelmänä käytetyn progressiivisen voimaharjoitteluintervention vaikutuksia hippokampuksen neurogeneesiin sekä muistiin ja oppimiseen ei ole tutkittu kovinkaan laajasti. Tähän mennessä julkaistuissa tutkimuksissa voimaharjoittelulla on saatu positiivisia vaikutuksia aivojen plastisuuteen ja kognitioon (Cassilhas ym., 2010 & 2012; Liu-Ambrose ym., 2010; Nagamatsu ym., 2013). Voimaharjoittelulla on pystytty vaikuttamaan myös hermokasvutekijöiden tasoon veressä ja hippokampuksessa sekä mielialan kohentumiseen (Cassilhas ym., 2010 & 2012; Neeper ym., 1995). Ensimmäisenä tutkimuskysymyksenä oli, onko voimaharjoittelulla vaikutusta hippokampuksen uusien hermosolujen hengissä säilymiseen. Hypotesimme mukaan oletimme kahdeksan viikkoa kestävä, kolme kertaa viikossa tapahtuvan progressiivisen voimaharjoittelun, vaikuttavan positiivisesti uusien, ensimmäisen harjoitusviikon aikana syntyneiden hermosolujen selviytymiseen. Toisena tutkimuskysymyksenä halusimme selvittää onko voimaharjoittelulla vaikutuksia muistiin ja oppimiseen, jota testasimme hippokampusvälitteisellä paikkamuistitehtävällä. Hypotesimme mukaan oletimme, että voimaharjoittelu vaikuttaa parantavasti paikkamuistitehtävän oppimiseen. Lisäksi halusimme selvittää onko paikkamuistitehtävän onnistuneella oppimisella yhteyttä uusien hermosolujen hengissä säilymiseen.

Hypoteesimme oli, että onnistunut oppiminen paikkamuistitehtävässä korreloi uusien hermosolujen selviytymisen kanssa.

2 MENETELMÄT

2.1 Koe-eläimet ja olosuhteet

Tutkimuksen koe-eläiminä käytettiin uros-rottia (Sprague-Dawley, 270–290 g, n = 20), jotka saapuivat laitokselle 8 viikon ikäisinä Harlan Laboratories -yhtiöltä. Testauksen alkaessa koe-eläimet olivat 12 viikon ikäisiä, sukukypsiä ja puberteetin ohittaneita, sekä niitä oli totutettu käsittelyyn. Harjoitusten ulkopuolisen ajan rotat viettivät pareittain häkeissä, joissa niillä oli jatkuvasti tarjolla ruokaa ja vettä. Häkit olivat mitoiltaan 595 x 380 x 200 mm (Tecniplast 1354) ja niissä käytettiin pehmusteena purua sekä pesäntekomateriaalia. Kaikki testaus suoritettiin valoisan aikaan, normaalin vuorokausirytmien mukaan (klo 08-20 valot päällä, klo 20–08 valot pois päältä). Huoneen lämpötila pidettiin 21 ± 2 °C ja kosteusprosentti 50 ± 10 %. Koe-eläinten käsittelyssä noudatettiin Euroopan Unionin koe-eläinten käyttöä ja huolenpitoa koskevaa direktiiviä (86/609/EEC). Lupa tutkimukseen oli haettu Etelä-Suomen Aluehallintovirastolta (ESAVI).

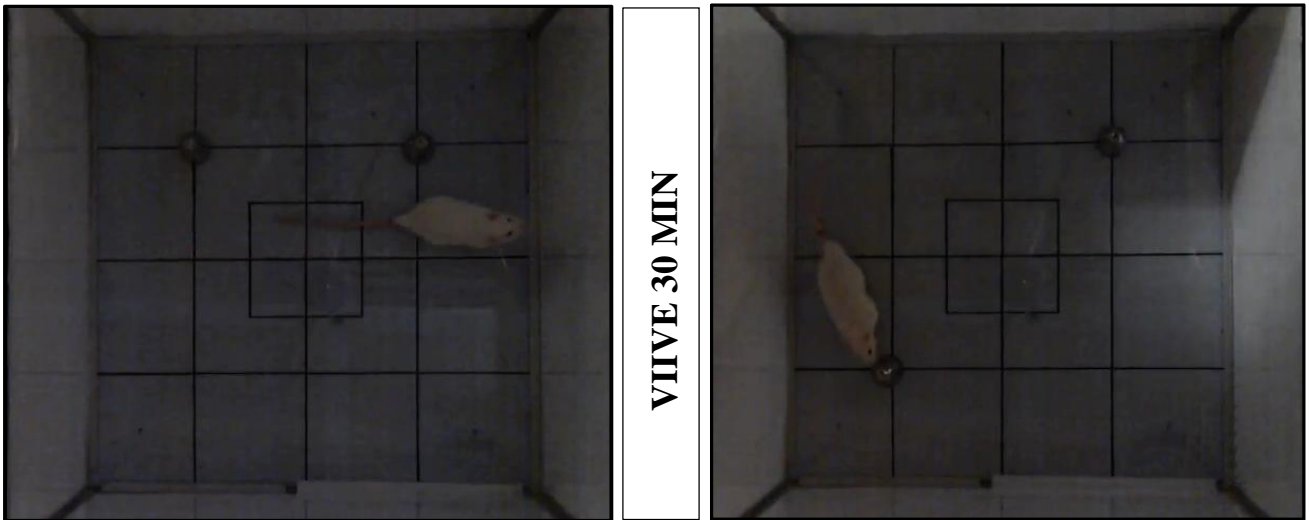
2.2 Voimaharjoittelu

Tutkimuksessa käytetyt koe-eläimet jaettiin satunnaisesti kahteen eri ryhmään; koeryhmään (resistance training, RT, n = 10) ja kontrolliryhmään (sedentary control, SC, n = 10). Koeryhmään kuuluneet eläimet suorittivat kahdeksan viikon harjoitusjakson johon sisältyi yhteensä 24 voimaa kehittävää harjoituskertaa. Kontrolliryhmään kuuluneet eläimet viettivät harjoituksiin käytetyn ajan pleksilaatikoissa harjoitushuoneessa, jotta ne saivat käsittelyä ja sitä kautta uusia kokemuksia. Harjoitusjakso koostui kolmesta harjoituskerrasta viikossa (ma, ke, pe) kahdeksan viikon ajan. Voimaharjoitus tapahtui pystysuorilla tikapuilla (korkeus 90cm, leveys 15cm, kaltevuus 85° ja askelmien välimatka 2cm), joita eläimet kiipesivät painot häntään kiinnitettyinä. Eläimet aloittivat kiipeämisen suurin piirtein tikapuiden puolesta välistä, koska alempaa yritettäessä rotat pyrkivät laskeutumaan alaspäin. Jokainen harjoitus sisälsi yhdeksän tikapuulle nousua. Ensimmäinen nousu oli 50 % viime harjoituksen maksimikuormasta, seuraava 75 %, ja seuraava 90 % jonka jälkeen

uudella maksimikuormalla pyrittiin tekemään vähintään kolme nousua. Nousujen välissä pidettiin 90 sekunnin palautustauko. Kuormitusta lisättiin jokaisella harjoituskerralla. Harjoitusten aikana rotista tehtiin merkintöjä niiden mahdollisen uupumisen ja kiipeämismotivaation suhteen sekä niiden paino mitattiin jokaisen harjoituskerran yhteydessä. Kuormitustapa ja harjoitusohjelma oli mukailtu Hornberg & Farrar'n vuonna 2004 julkaistusta tutkimuksesta.

2.3 Paikkamuistitehtävä

Ennen ja jälkeen kahdeksan viikon harjoitusjakson, rotille suoritettiin niiden spontaania mieltymystä uusia esineitä kohtaan mittaava avoin kenttä -paikkamuistitehtävä. Paikkamuistitehtävässä on todistettu, että rotan spontaania tutkimisaktiivisuutta uusia esineitä kohtaan voidaan käyttää luotettava mittarina mitattaessa muistin toimintoja (Ennaceur, Neave & Aggleton, 1996). Laitteisto rakentui 80 x 80 x 40 cm päältä avoimesta areenasta (Kuvio 1), johon rotilla oli mahdollisuus tutustua ennen testauksen aloittamista. Tehtävä suoritettiin erillisessä, hiljaisessa koehuoneessa. Molemmat sessiot nauhoitettiin videokameralla, joka oli kiinnitetty areenan yläpuolelle. Paikkamuistitestissä jokaiselle rotalle esitettiin kaksi identtistä objektia. Nämä objektit oli aseteltu lähelle areenan kulmia. Objekteina käytettiin 0,33 litran alumiinitölkkejä. Videoidun opetussession aikana rotalla oli kymmenen minuuttia aikaa tutustua vapaasti areenaan ja objekteihin. Tämän jälkeen rotta palautettiin häkkiin noin 30 minuutiksi. Mieltymys uusia esineitä kohtaan on luotettavasti havainnoitu 15 minuutin tauon viiveellä, mutta jos viive kasvaa yli 60 minuuttiin, testin luotettavuus kärsii (Ennaceur, Neave & Aggleton, 1996). Itse muistitettiin toisen objektin sijaintia muutettiin. Testisessiossa rotalla oli viisi minuuttia aikaa tutkia areenaa, sekä vanhassa ja uudessa paikassa sijaitsevia objekteja. Jokaisen rotan välillä areena puhdistettiin kostealla pyyhkeellä ja ulosteet siivottiin pois. Lopuksi areena desinfioitiin alkoholilla.



Kuvio 1 Paikkamuistitehtävä. Ensimmäisessä sessiossa rotalla on 10 minuuttia aikaa tutustua areenaan ja objekteihin. Testisessiossa (5 minuuttia), toisen objektin sijaintia muutetaan. Rotta osoittaa luonnostaan spontaania tutkimisaktiivisuutta uutta esinettä kohtaan, jota voidaan käyttää mittarina mitattaessa muistin toimintoja (Ennaceur ym. 1996).

2.4 Bromodeoxyuridiini (BrdU)

Tutkittaessa yhteyttä voimaharjoittelun ja neurogeneesin välillä, kaikkiin koe-eläimiin injektoitiin bromodeoxyuridiini (BrdU) -värjäysaine, jonka avulla mitattiin uusien hermosolujen säilymistä hippokampuksessa, BrdU sitoutuu kaikkiin jakautuviin soluihin osaksi perimää ja toimii näin ollen uusien solujen merkkiaineena. BrdU injektoitiin rottiin intraperitoneaalisesti eli vatsaonteloon ensimmäisen harjoitusviikon alussa, ennen kutakin harjoituskertaa (3 x injektiota: annos: 200 mg/kg pitoisuus: 15 mg/ml sekoitettuna fysiologiseen suolaliuokseen, pH 7.4). BrdU pysyy aktiivisena kahden tunnin ajan eli merkitsee tuona aikana jakautuneet solut. Viive injektion ja harjoituskerran välillä oli yli neljä tuntia. Koe-eläimillä ei havaittu minkäänlaisia myrkytyksen merkkejä tai epänormaalia käyttäytymistä BrdU -injektion jälkeen.

Kahdeksan viikon harjoitusjakson päätyttyä rotat lopetettiin ja niiden aivot irrotettiin ja jaoteltiin vasempaan ja oikeaan aivopuoliskoon sekä pikkuaivoihin, jonka jälkeen ne säilöttiin 4 % paraformaldehydi -liuokseen (pH 7.4) seuraavaksi 24 tunniksi. Seuraavana päivänä aivot vaihdettiin fosfaattipuskuri -liuokseen (PBS, pH 7.6), jossa niitä säilytettiin näytteiden leikkaukseen asti. Tämä tutkimus on osa laajempaa tutkimusta, jossa rotille suoritettiin muitakin käyttäytymiskokeita, kuten pelkoehdollistamista sekä mitattiin hermosolujen ja verisuonten uusiutumista aivoissa. Tässä tutkimuksessa keskityttiin mittaamaan hippokampuksen uusien hermosolujen säilymistä hengissä sekä paikkamuistitehtävän suorittamista.

2.5 Aivonäytteiden leikkaus

Aivopuoliskot leikattiin vibratomilla (LEICA VT 1000 S automaattinen vibratomi) 40 µm paksuisiksi kudoksenäytteiksi. Leikattavat aivopuoliskot valittiin niin, että otakseen tuli tasaisesti vasenta ja oikeaa aivopuoliskoa. Jokaisen rotan toisesta aivopuoliskosta otettiin talteen 12 kymmenen viipaleen sarjaa. Näin saatiin kattava otos koko hippokampuksen alueesta. Näytteet laitettiin Eppendorf -näyteputkiin, jotka oli täytetty jäänestoaineella (sakkaroosi 150 g + 200 ml 0,1 M PBS + 150 ml etyleeniglykoli, pH 7.6). Näytteitä säilytettiin pakkasessa BrdU immunohistokemialliseen värjäykseen asti.

2.6 Immunohistokemiallinen värjäys

Näytteiden värjäys suoritettiin BrdU primaarivasta-aineella. Värjäysprosessi tehtiin kelluville leikkeille ja se aloitettiin 0.1 M PBS (pH 7.4) pesuilla 3 x 15 min, jonka jälkeen näytteet olivat 2h 2N HCl -liuoksessa (100 ml: 19.2 ml 32 % HCl + 80.8 ml 0.1 M PBS). Tämän jälkeen tehtiin 3 x 15 min PBS pesut, jonka jälkeen näytteet olivat puoli tuntia 3 % H₂O₂ PBS liuoksessa (1 ml 30 % H₂O₂ + 9 ml 0.1 M PBS) sisäsyntyisen peroksidaasin blokkaukseksi. Tämän jälkeen lisättiin 3 % normaalia vuohen seerumia ja sen annettiin vaikuttaa 1 h. Viimeisenä vuohen seerumi vaihdettiin BrdU primaarivasta-aineeseen (1:100). Vasta-aine laimennettiin Tris-puskuroituun suolaliuokseen, johon oli lisätty Triton X-100 (0.5 %, näytteiden läpäisevyyden parantamiseksi, TBS-T) sekä normaalia vuohen seerumia (1 %, taustavärjäyksen vähentämiseksi). Näytteiden annettiin olla vastaaineliuoksessa yön yli huoneenlämmössä.

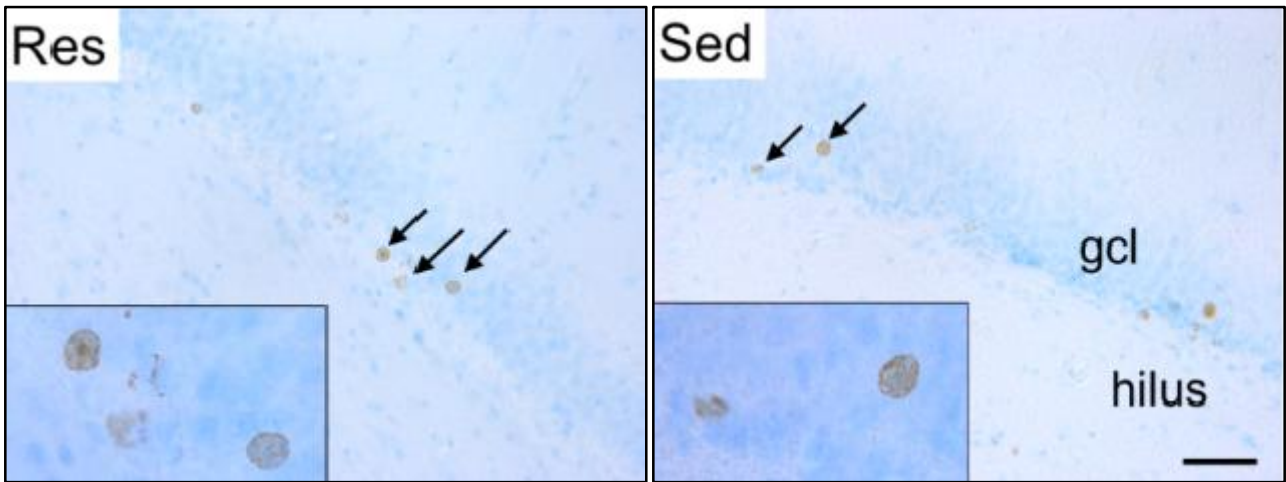
Seuraavana päivänä käsittelyt aloitettiin 0.1 M TBS-T pesuilla 3 x 5 min. Tämän jälkeen näyteputkiin vaihdettiin TBS-T -pohjaan liuotettu sekundaarivasta-aine (pitoisuus: 1:500) ja annettiin sen vaikuttaa 2 h huoneenlämmössä. Tämän jälkeen suoritettiin TBS-T pesut 3 x 5 min. Sitten vaihdettiin näytteet tertiäarivasta-aineliuokseen (1:1000, liuotettu TBS-T -pohjaan) ja annettiin sen vaikuttaa 2 h. Tämän jälkeen tehtiin vielä TBS-T pesut 3 x 5 min. Pesujen jälkeen näytteitä pidettiin TRIS puskuriin liuotetussa diaminobenzidiinissa (DAB, noin 3-5 minuutin ajan kunnes rakenteet erottuivat silmämääräisesti. Värjäytymisreaktiota nopeutettiin lisäämällä DAB -liuokseen vetyperoksidia. Tämän jälkeen näytteet pestiin fosfaattipuskurissa 3 x 1 min. Lopuksi näytteet siirrettiin ja kiinnitettiin lasille gelatiinin avulla ja annettiin kuivua lämpökaapissa (+37 °C) seuraavan vuorokauden ajan.

BrdU -värjäyksen jälkeen lasilla oleville kudosnäytteille tehtiin kresyyliviolettivärjäys, jolla saatiin aivokudoksen rakenne esille. Ensin näytteet järjesteltiin värjäyskelkkoihin ja niitä pidettiin tislatussa vedessä (dH₂O) noin kolmen minuutin ajan. Tämän jälkeen näytteet siirrettiin 0.1 % kresyyliviolettiliuokseen, joka värjäsi kudosleikkeet violetiksi. Ylimääräinen väri huuhdottiin tislatussa vedessä, jonka jälkeen kaikki kudosleikkeet kuljetettiin nousevan alkoholisarjan (70 %, 95 %, 100 % etanolia) läpi värjäystuloksen haalistamiseksi. Kahteen ja puoleen desilitraan alkoholia 70 % etanolia oli lisätty neljä tippaa etikkahappoa värinpoiston tehostamiseksi. Lopuksi näytteitä pidettiin ksyleenissä. Ensimmäisessä ksyleenissä näytteitä inkuboitiin viiden minuutin ajan, jonka jälkeen ksyleeni vaihdettiin puhtaaseen ja sen annettiin vaikuttaa vielä toiset viisi minuuttia. Sitten näytteet peitettiin liiman (Depex) avulla peitinlasien alle.

2.7 Aineiston analysointi

Aivonäytteiden BrdU- ja kresyyliviolettivärjäyksen jälkeen suoritettiin uusien hermosolujen määrän laskeminen valomikroskoopilla. Jokaisesta kudoksetuksesta laskettiin uusien hermosolujen määrä hippokampuksen pykäläpoimun alueelta sekä hiluksesta (Kuvio 2). Tämän jälkeen pykäläpoimun uusien solujen lukumäärä kerrottiin ensin kahdellatoista ja sen jälkeen vielä kahdella, jotta saatiin koko hippokampuksen solujen lukumäärä molemmille aivopuoliskoille. Solut kuvattiin 40x suurenteisen objektin läpi.

Paikkamuistitehtävän videoista tarkastelu suoritettiin seuraaville mitoille; opetussession yhteenlaskettu tutkimisaika molemmille objekteille, opetussession yhteenlasketut käynnit molemmille objekteille, testisession erikseen lasketut tutkimisajat uudelle ja vanhalle objektille, testisession erikseen lasketut käynnit uudelle ja vanhalle objektille. Paikkamuistitehtävän testisession osalta laskettiin prosentuaalinen paikkamuistiarvo, joka saatiin laskemalla uuden objektin tutkimiseen käytetty aika (sekunteina) jaettuna uuden ja vanhan objektin tutkimiseen yhteensä käytetyllä ajalla (sekunteina). Rotta osoitti enemmän kiinnostusta uutta objektia kohtaan, jos uuden objektin prosentuaalinen tutkimisaika oli yli 50 %. Tämän avulla mittasimme oppimista ja mahdollisia ryhmien välillä esiintyviä eroja. Myös rotan aktiivisuutta areenalla (liikkuminen areenan merkattujen viivojen yli) arvioitiin, jotta tämän tekijän vaikutus voitaisiin tarvittaessa ottaa huomioon.



Kuvio 2 Uudet hermosolut. BrdU -värjättyjä uusia hermosoluja hippokampuksen pykäläpöimun jyväsolukeroksessa (vas. koeryhmä, oik. kontrolliryhmä). Nuolet osoittavat uusia selviytyneitä hermosoluja.

2.8 Tilastolliset menetelmät

Tilastolliset analyysit suoritettiin SPSS (versio 22) ohjelmalla. Tilastollisesti merkitsevinä pidettiin tuloksia, joissa p-arvo oli pienempi kuin 0.05.

Uusien hermosolujen hengissä säilymistä kahden tutkittavan ryhmän välillä mitattaessa, ryhmien normaalijakautuneisuus testattiin Shapiro-Wilk -testillä, jonka jälkeen varianssien yhtäsuuruus testattiin Levenen testillä. Koska ryhmät olivat normaalisti jakautuneita ja varianssit yhtä suuria käytettiin ryhmien välisiä eroja mitattaessa riippumattomien otosten t -testiä sen käytön yleisyyden vuoksi. Pienestä otoskoosta johtuen suoritimme testauksen vielä epäparametrisellä Mann-Whitney U -testillä.

Paikkamuistitehtävän suorittamisessa ryhmien välisiä eroja mitattiin riippumattomien otosten t -testillä.

Uusien hermosolujen määrän ja paikkamuistin lineaarista riippuvuutta testattiin Pearsonin korrelaatiokertoimella.

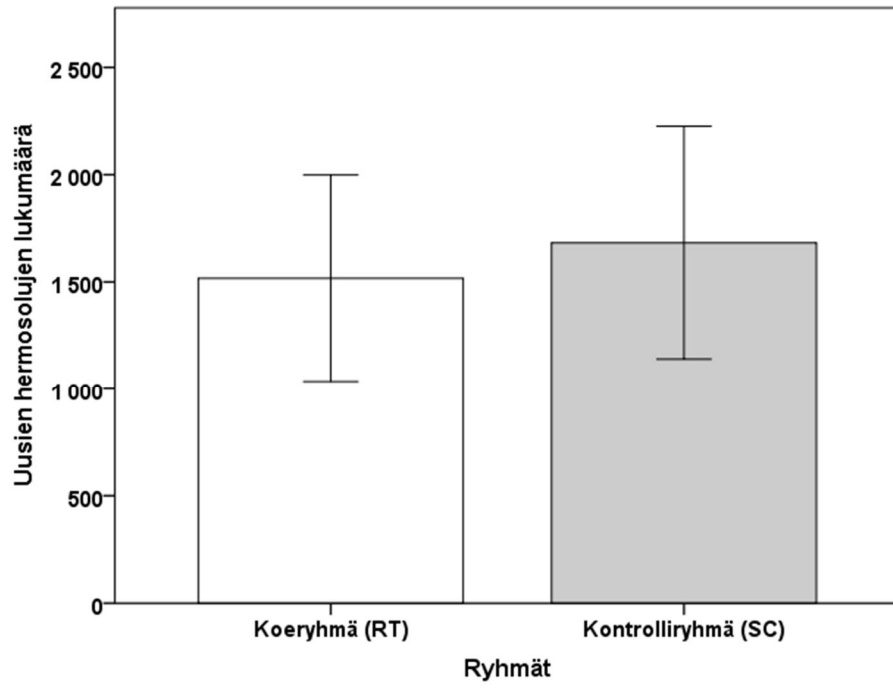
3 TULOKSET

3.1 Voimaharjoittelun vaikutukset

Harjoitusjakson alussa rottien ylös vetämä keskimääräinen paino oli 292 g, puolivälissä keskimääräinen paino oli 699 g (241 %), ja harjoitusjakson lopussa mitattu keskimääräinen paino oli 1018 g (350 %). Voimaharjoittelun suorittaneen koeryhmän oma massa harjoitusjakson alussa, yhdeksän viikon ikäisinä, oli keskimäärin 276 g. Harjoitusjakson jälkeen keskimääräinen paino koeryhmällä oli 386 g. Kontrolliryhmän keskimääräinen oma massa oli harjoitusjakson alussa 275 g ja harjoitusjakson lopussa 421 g. Rottien kehonpainoissa oli tilastollisesti merkitsevä ero ryhmien välillä harjoitusjakson jälkeen: $t(18) = 2,577$, $p = .019$. Koeryhmällä energian kulutus oli harjoitusjakson aikana suurempaa eikä kummankaan ryhmän ruokintaa rajoitettu missään harjoitusjakson vaiheessa.

3.2 Uusien hermosolujen hengissä säilyminen

Tässä tutkimuksessa halusimme selvittää onko voimaharjoittelu yhteydessä hippokampuksen uusien hermosolujen säilymiseen hengissä aikuisilla rotilla. Ryhmien väliltä ei löytynyt tilastollisesti merkitsevää eroa uusien hermosolujen hengissä säilymisen suhteen RT, $n = 9$ ($M = 1517.33$, $SD = 626.85$), SC, $n = 9$ ($M = 1682.67$, $SD = 706.21$), $t(16) = .525$, $p = .607$, ($U = 48.50$, $p = .489$), (Kuvio 3). Molempien ryhmien otoksista poistettiin yhden rotan joille ei saatu solujen lukumäärää värjäyksen epäonnistumisesta johtuen.

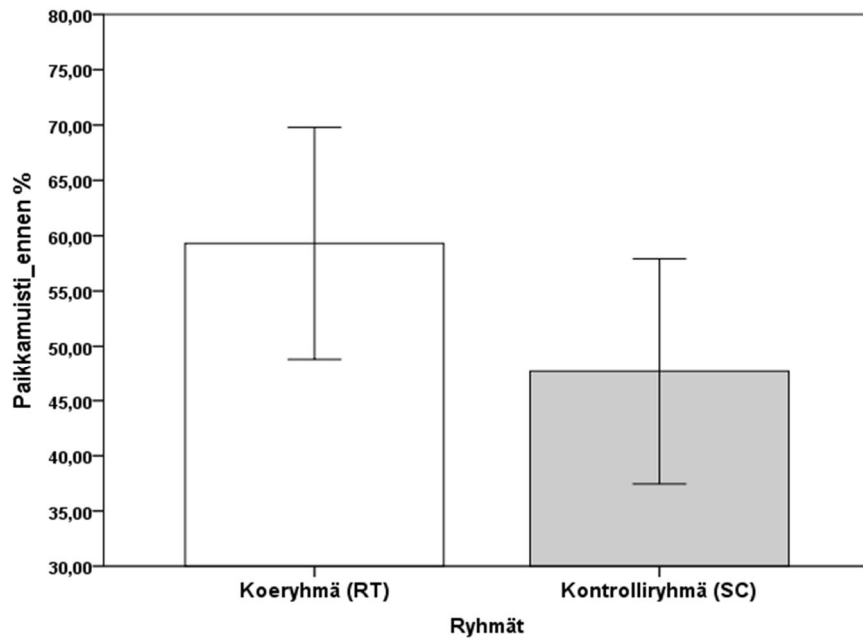


Kuvio 3 Uusien hermosolujen lukumäärän keskiarvo jyväsolukerrossa. Hajontaviikset kuvaavat keskiarvon keskivirhettä.

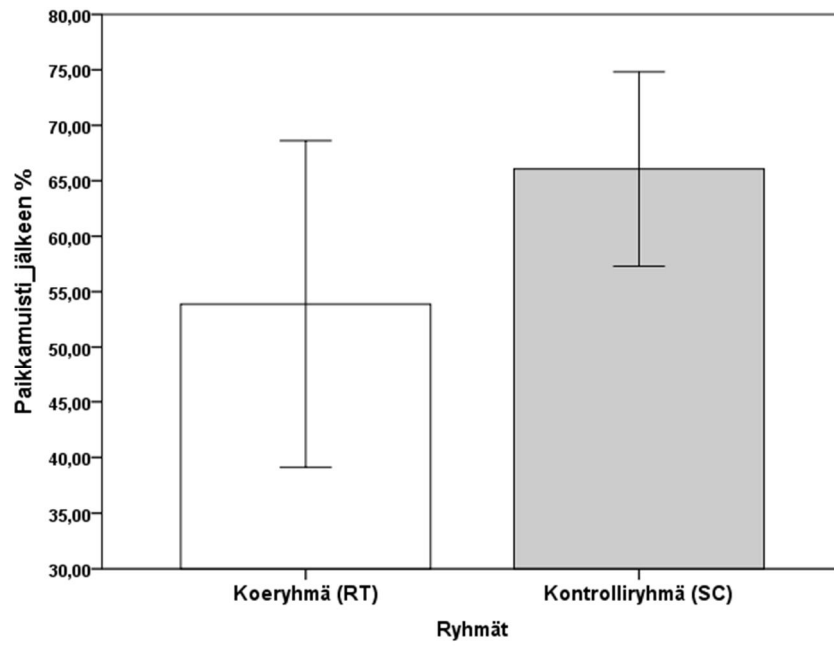
3.3 Paikkamuistitehtävä

Paikkamuistitehtävässä vertailussa olivat molemmat ryhmät (RT & SC). Riippumattomien otosten t-testin mukaan ryhmien välillä ei löytynyt tilastollisesti merkitsevää eroa paikkamuistitehtävän suorittamisessa ennen voimaharjoittelujaksoa $t(18) = .794$, $p = .964$ (Kuvio 4), tai sen jälkeen $t(18) = .607$, $p = .292$ (Kuvio 5). Ryhmäkohtaiset keskiarvot ja keskihajonnat paikkamuistitehtävässä ennen voimaharjoittelujaksoa RT, $n = 10$ ($M = 59.30$, $SD = 14.66$), SC, $n = 10$ ($M = 47.68$, $SD = 14.30$) ja jälkeen RT ($M = 53.87$, $SD = 20.61$), SC ($M = 66.06$, $SD = 12.25$). Vastoin hypoteesiamme voimaharjoittelujakson suorittaneen koeryhmän oppiminen paikkamuistitehtävässä heikkeni harjoitusjakson jälkeen, kun taas kontrolliryhmään kuuluneiden eläinten yhteistulos parani.

Ennen voimaharjoittelujaksoa, ensimmäisellä videointikerralla rottien keskimääräinen yhteenlaskettu tutkimisaika molemmille objekteille oli noin 43 sekuntia (RT, $M = 43.40$, $SD = 16.10$) ja 56 sekuntia (SC, $M = 55.60$, $SD = 39.01$). Testisessiossa rotat tutkivat uutta objektia noin 9 sekuntia (RT, $M = 9.40$, $SD = 2.84$) ja 10 sekuntia (SC, $M = 10.20$, $SD = 5.20$). Vanhan objektin tutkimisajat olivat noin 7 sekuntia (RT, $M = 6.60$, $SD = 3.13$) sekä 11 sekuntia (SC, $M = 11.20$, $SD = 5.83$). Voimaharjoittelujakson jälkeen, ensimmäisellä videointikerralla rottien yhteenlaskettu keskimääräinen tutkimisaika molemmille objekteille oli noin 49 sekuntia (RT, $M = 48.70$, $SD = 24.02$) ja 42 sekuntia (SC, $M = 41.70$, $SD = 18.59$). Testisessiossa rotat tutkivat uutta objektia noin 11 sekuntia (RT, $M = 10.90$, $SD = 6.90$) ja 17 sekuntia (SC, $M = 16.90$, $SD = 15.77$). Vanhan objektin tutkimisajat olivat noin 11 sekuntia (RT, $M = 10.60$, $SD = 8.95$) ja 8 sekuntia (SC, $M = 8.00$, $SD = 7.30$).



Kuvio 4 Uuden objektin tutkimisaika prosentteina ennen harjoitusjaksoa. Hajontaviikset kuvaavat keskiarvon keskivirhettä.



Kuvio 5 Uuden objektin tutkimisaika prosentteina harjoitusjakson jälkeen. Hajontaviikset kuvaavat keskiarvon keskivirhettä.

3.4 Uusien hermosolujen ja paikkamuistin korrelaatio

Uusien hermosolujen ja paikkamuistin korrelaatiota mitattaessa, muuttujina olivat BrdU positiivisten uusien hermosolujen lukumäärä sekä paikkamuistitehtävässä suoriutumista kuvaava muuttuja. Koko ryhmän kesken uusien hermosolujen ja paikkamuistin välillä ei löytynyt tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota ennen voimaharjoittelujaksoa: (n = 18) $r = .127$, $p = .614$ eikä voimaharjoittelujakson jälkeen $r = -.104$, $p = .683$. Ryhmiä erikseen tutkittaessa ei löytynyt tilastollisesti merkitseviä korrelaatioita: RT, (n = 9) $r = .186$, $p = .631$, SC, (n = 9) $r = .184$, $p = .635$ eikä voimaharjoittelujakson jälkeen RT, $r = -.365$, $p = .334$, SC, $r = .106$, $p = .786$.

4 POHDINTA

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää vaikuttaako voimaharjoittelu hippokampuksen uusien hermosolujen säilymiseen aikuisten nisäkkäiden aivoissa, sekä onko voimaharjoittelulla vaikutusta hippokampusvälitteisen paikkamuistitehtävän oppimiseen. Hypoteesina oli, että voimaharjoittelu vaikuttaa positiivisesti uusien hermosolujen säilymiseen, jonka johdosta oletimme myös oppimisen paikkamuistitehtävässä tehostuvan. Hypoteesin vastaisesti voimaharjoittelu ei kasvattanut pykäläpoimun uusien hermosolujen säilymistä. Myöskään koeryhmään kuuluneiden eläimien oppiminen paikkamuistitehtävässä ei parantunut voimaharjoittelujakson jälkeen.

4.1 Voimaharjoittelun vaikutus uusien hermosolujen säilymiseen

Tutkimuksessa käytetty kahdeksan viikon progressiivinen voimaharjoittelujakso ei kasvattanut uusien hermosolujen selviytymistä hippokampuksessa. Aiemmissä tutkimuksissa, joissa on tutkittu liikunnan vaikutusta aivojen terveyteen, on harjoittelumuotona yleisesti käytetty aerobista harjoittelua, jonka vaikutuksesta neurogeneesi on lisääntynyt (Van Praag, Kempermann & Gage, 1999; Vivar, Potter, & van Praag, 2013). Voimaharjoittelulla ei ole pystytty vaikuttamaan neurogeneesin määrään, mutta sillä on tutkittu olevan positiivisia vaikutuksia muun muassa kognitiivisiin toimintoihin, mielialaan sekä hermokasvutekijöihin (Cassilhas 2007, 2010 & 2012).

Voimaharjoittelulla pystytään vaikuttamaan myös lihaskatoon, lihaksen voimaan, tehoon ja kestävyteen, joihin aerobisella harjoittelulla on vaikeampi vaikuttaa (Liu-Ambrose ym., 2012).

Aiemmissa eläintutkimuksissa harjoitusjaksojen kestot ovat vaihdelleet yhdestä viikosta useampaan viikkoon, joten ehkä tässä tutkimuksessa käytetty kahdeksan viikon voimaharjoittelujakso ei ollut riittävä kestoltaan tai tarpeeksi intensiivinen vaikuttaakseen uusien hermosolujen selviytymiseen.

Tässä tutkimuksessa voimaharjoittelujaksossa käytettiin vertikaaleja tikapuita, joille rotat tekivät nousevia sarjoja painot häntään kiinnitettyinä. Rotilla on luontainen mieltymys virikkeellisiä toimintoja kohtaan, mutta painojen ylös vetäminen ei ollut niille kovinkaan mieluisaa eikä niiden ruumiinrakenne ole ihanteellinen raskaiden kuormien ylös vetämiseen. Lisäksi rotille epäluontaisten asioiden on tutkittu lisäävän niiden stressiä, jolla taas on heikentävä vaikutus neurogeneesiin (Dagyte ym., 2009). Eräässä neurogeneesiä käsittelevässä tutkimuksessa harjoitusmuotona käytettiin vastuksen kanssa tehtyä juoksupyöräharjoittelua, jossa vastus oli 30 % rotan omasta ruumiinpainosta. Neurogeneesin tutkittiin lisääntyvän yhtä paljon kuin pelkällä aerobisella harjoittelulla, mutta juoksumatkaksi riitti jopa puolet lyhyempi matka (Lee ym., 2013). Tässä harjoittelumuodossa aerobisen harjoittelun vaikutusta neurogeneesiin ei pystytä pois sulkemaan, joten vastuksen merkitystä ei voida arvioida erikseen.

On mahdollista, että voimaharjoittelu johtaisi aerobisen harjoittelun kaltaisiin tuloksiin neurogeneesissä, jos harjoittelussa käytettäisiin kevyempiä painoja, suurempia toistomääriä ja lyhyitä palautumistaukoja (Ahlskog ym., 2011). Haastavaksi voimaharjoittelun tutkimisen tekee sen hankala sovellettavuus eläintutkimuksissa. Olisi kuitenkin tärkeää tutkia erilaisten harjoitusmuotojen yhteyksiä neurogeneesiin, jotta ihmisille saataisiin tarjottua laajempi skaala neurogeneesiin vaikuttavia urheilumuotoja.

4.2 Voimaharjoittelun vaikutus paikkamuistitehtävän oppimiseen

Tässä tutkimuksessa voimaharjoittelujaksolla ei saatu vaikutusta paikkamuistitehtävän oppimiseen. Tutkimuksen tulokset eivät tukeneet aikaisempien tutkimuksien tuloksia voimaharjoittelun vaikuttavuudesta muistin ja oppimisen kognitiivisiin edellytyksiin. Hypoteesin vastaisesti voimaharjoittelu ei vaikuttanut positiivisesti neurogeneesiin, jolloin paikkamuistitestin suorittaminen saattoi jäädä heikoksi. Kontrolliryhmään kuuluneet eläimet suoriutuivat paikkamuistitestistä keskimääräisesti paremmin, mutta ryhmien välillä tai sisällä ei löytynyt

tilastollisesti merkitseviä eroja. Kontrolliryhmän kohentunut suoritus saattaa selittyä osin sillä, että ne eivät altistuneet kahdeksan viikon aikana millekään niitä stressaavalle tapahtumalle, jonka ansiosta ne saattoivat suoriutua testistä paremmin.

Aerobisella harjoittelulla pystytään vaikuttamaan muun muassa hippokampuksen tilavuuden ja hermokasvutekijöiden kasvuun sekä jyväsolukerroksen uusien hermosolujen lisääntymiseen, jotka kaikki tehostavat muistin ja oppimisen prosesseja. Voimaharjoittelun on aiemmin tutkittu parantavan ongelmanratkaisukykyä, valikoivaa tarkkaavaisuutta, kävelynopeutta, aivokuoren funktionaalista plastisuutta sekä lisäävän hermokasvutekijä IGF-1 tasoa hippokampusessa. IGF-1 näyttää toimivan harjoittelun vaikutuksien välittäjänä muun muassa kognitiivisiin toimintoihin sekä mielialaan, mutta muut voimaharjoittelun takana vaikuttavat neurofysiologiset mekanismit ovat vielä osaltaan tuntemattomat (Bherer ym., 2013; Cassilhas, 2007, 2010 & 2012; Liu-Ambrose ym., 2012).

4.3 Uusien hermosolujen vaikutus paikkamuistitehtävän oppimiseen

Uusien hermosolujen ja paikkamuistitehtävän oppimisen väliltä ei löytynyt tilastollisesti merkitsevää eroa. Rottien tulkittiin oppivan tehtävän, jos uuden objektin tutkimisaika oli yli 50 prosenttia objektien yhteisestä tutkimisajasta.

Aiemmin on raportoitu jyväsolukerroksen kypsien neuroneiden kaksinkertaistuneen vasteena hippokampusvälitteisten tehtävien, kuten Morris vesisokkelo sekä silmäniskureaktion klassinen ehdollistaminen, oppimiselle. Solujen selviytymisen kannalta tehtävän onnistunutta oppimista ja haastavuutta pidetään tärkeämpiä tekijöinä, kuin hippokampusvälitteisyyttä (Gould ym., 1999). Aiemmissa eläintutkimuksissa on esiintynyt vaihtelevuutta siinä, minkälaisilla mittareilla kognitiivisia kykyjä on mitattu (Colcombe & Kramer, 2003). Tässä tutkimuksessa tehtävänä käytettiin hippokampusvälitteistä paikkamuistitehtävää, jossa oppiminen osoitetaan tunnistamalla objektien paikat toisistaan. Esineen etsintä kohteentunnistustehtävässä saattaa olla ongelmallinen, jos tutkimiseksi lasketaan vain käyttäytyminen esineen läheisyydessä (esim. < 1cm). On osoitettu, että objekteja voi tarkkailla myös kauempaa, jonka perusteella rotta voi syrjiä tiettyä objektia sen yksittäisen piirteen tai sijainnin takia (Albasser, Amin, Lin, Iordanova, & Aggleton, 2012; Ennaceur ym., 1997).

Ottaen huomioon, että tutkimukset tehdään laboratorioeläimillä, jyrsijöille ei ehkä ole tarpeen liittää uusia hermosoluja hermoverkostoihin, joissa ne eivät tähtää sen välittömään kykyyn selviytyä luonnossa. Voisikin olettaa, että uusien hermosolujen rooli liittyy lähinnä ihmisille yleisesti haasteellisiin toimintoihin, kuten kahden asian samanaikaiseen hallitsemiseen. Samaan aikaan kuin osa hermosoluista pelastetaan kuolemalta altistamalla se oppimiselle, osa uusista liian nuorista soluista kuolee samanaikaisesti. Tämä saattaa olla mukautettu vastaus oppimiseen, jolloin jyväsolujen kokonaismäärä saadaan pysymään optimaalisella tasolla pykäläpoimussa (Shors ym., 2012).

On arvioitu, että liikunnan kognitiivisten ja hermostollisten hyötyjen tulee tapahtua samassa kontekstissa sosiaalisten sidonnaisuuksien kanssa, jotta niiden hyödyt tulisivat esille (Liu-Ambrose ym., 2008). Jotta neurogeneesin ja oppimisen yhteyttä voitaisiin onnistuneesti tutkia ihmisillä, tulisi tutkijoiden kehittää menetelmiä uusien hermosolujen havaitsemiseen elävissä aivoissa. Tällä hetkellä voidaan kuitenkin olettaa, että uusien hermosolujen runsas tarjonta auttaisi pitämään ihmisen aivoja älyllisesti notkeina, jolloin neurogeneesiä voisi hyödyntää kognitiivisia rappeumia aiheuttavien sairauksien ehkäisyssä ja hoidossa (Shors, 2009).

4.4 Miksi tutkimus on tarpeen

Yksittäisten osatekijöiden, kuten liikunnan vaikutusta, on hankalaa tutkia ihmisillä, koska muiden vaikuttavien tekijöiden rajaaminen ja eliminointi on vaikeaa. Eläinmalleilla ei kuitenkaan pystytä mittaamaan ihmiselle uniikkeja kognitiivisia kykyjä, kuten verbaalinen oppiminen ja muisti, joten olisi tärkeää ymmärtää minkälaiset fyysisen harjoittelun mekanismit kehittävät näitä ihmiselle ainutlaatuisia kykyjä (Voss ym., 2013). Lisäksi erilaisilla fyysisillä harjoituksilla saattaa olla erilaisia hyötyjä ihmiskehoon, riippuen harjoituksen määrästä ja intensiteetistä. Ikääntyvillä ihmisillä suoritettussa tutkimuksessa havaittiin, että fyysisen harjoittelun hyödyt kognitiivisiin toimintoihin eivät riippuneet siitä, suoritettiinko harjoitus kohtalaisella vai raskaalla intensiteetillä, mutta psykologisesta näkökulmasta kohtalaisella intensiteetillä suoritettu harjoite voisi olla sopivampi, koska sen on tutkittu kohottavan mielialaa ja parantavan elämänlaatua, jotka taas osaltaan tehostavat kognitiivisia toimintoja (Cassilhas ym., 2007). Kehittyneet aivojenkuvantamismenetelmät ovat antaneet paremmat edellytykset tutkia ikääntymisen kognitiivisia vaikutuksia ihmisillä (Churchill ym., 2002). Yksi tulevaisuuden tärkeä tavoite on selvittää milloin nämä liikunnan hyödylliset edut saavutetaan ja milloin taas ei. On selviä

vaikuttavia tekijöitä, kuten: ikä, terveydentila, lääkityksen käyttö, sukupuoli, koulutus, elämäntapavalinnat, geneettinen profiili sekä perhe ja yhteiskunnallinen tuki, joista kuitenkin tarvitaan vielä lisätutkimusta (Kramer & Willis, 2002).

4.5 Johtopäätökset

Tutkimuksessa voimaharjoittelulla ei pystytty vaikuttamaan uusien hermosolujen selviytymiseen eikä paikkamuistitehtävän oppimiseen. Huonoa vaikuttavuutta voi selittää ryhmien pienet koot, harjoitusjakson kesto tai intensiteetti sekä mahdollinen stressireaktio harjoitusjakson aikana. Aiempien tutkimusten tulokset antavat kuitenkin viitteitä voimaharjoittelun vaikuttavuudesta aivojen plastisuuteen, jonka takia tehokkaampia harjoitusmuotoja tulisi testata lisää.

Liikunta kykenee moniin muutoksiin ihmiskehossa. Geneettiset muutokset hippokampuksessa viittaavat liikunnan käynnistävän muutoksia molekyylitason mekanismeissa, jotka ylläpitävät terveyttä ja edistävät aivojen muovautuvuutta. Eläinkokeilla ja ihmisillä on osoitettu, että liikunnan avulla voidaan vähentää vahinkojen laajuuksia aivovammojen jälkeen, sekä sen avulla kyetään hidastamaan ikääntymiseen liittyviä kognitiivisia rappeutumia ja sairauksia. Liikunnan takana toimivien mekanismien perustavanlaatuisen ymmärtäminen mahdollistaisi sen optimaalisen käytön ikääntyvässä ihmiskehossa (Cotman & Engesser-Cesar, 2002).

Aerobisten liikuntamuotojen, kuten kävely, juoksu, pyöräily ja uinti, suosio tutkimuksen kohteena on mahdollistanut niiden käytettävyyden helppous ja ne ovat aiemmissa tutkimuksissa yhdistetty suoraan neurogeneesin kasvuun, kognitiivisten toimintojen tehostumiseen sekä sydän- ja verisuoniston hyvinvointiin. Vaikka voimaharjoittelu ei ole yltänyt aerobisen harjoittelun kaltaisiin tuloksiin sen vaikuttavuudessa, olisi sitä hyvä tutkia tulevaisuudessa esimerkiksi muuttamalla harjoituksen kestoa, muotoa tai intensiteettiä sekä tutkimalla yksilöllisen geneettisen vaihtelun vaikutuksia. Näin aerobiselle harjoittelun rinnalle saataisiin tarjottua vaihtoehtoja, joilla olisi samanlaisia positiivisia vaikutuksia aivojen terveyteen.

LÄHTEET

Ahlskog, J. E., Geda, Y. E., Graff-Radford, N. R., & Petersen, R. C. (2011, September). Physical exercise as a preventive or disease-modifying treatment of dementia and brain aging. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 86, No. 9, pp. 876-884). Elsevier.

Aimone, J. B., Deng, W., & Gage, F. H. (2010). Adult neurogenesis: integrating theories and separating functions. *Trends in cognitive sciences*, 14(7), 325-337

Albasser, M. M., Amin, E., Lin, T. C. E., Iordanova, M. D., & Aggleton, J. P. (2012). Evidence that the rat hippocampus has contrasting roles in object recognition memory and object recency memory. *Behavioral neuroscience*, 126(5), 659.

Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in adult rats. *J Comp Neurol*. 1965;124:319–335

Anderson, M. L., Sisti, H. M., Curlik, D. M., & Shors, T. J. (2011). Associative learning increases adult neurogenesis during a critical period. *European Journal of Neuroscience*, 33(1), 175-181.

Bannerman, D. M., Rawlins, J. N. P., McHugh, S. B., Deacon, R. M. J., Yee, B. K., Bast, T., ... & Feldon, J. (2004). Regional dissociations within the hippocampus—memory and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28(3), 273-283.

Bliss, T. V., & Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(6407), 31-39.

Borst, S. E., De Hoyos, D. V., Garzarella, L. I. N. D. A., Vincent, K. E. V. I. N., Pollock, B. H., Lowenthal, D. T., & Pollock, M. L. (2001). Effects of resistance training on insulin-like growth factor-I and IGF binding proteins. *Medicine and science in sports and exercise*, 33(4), 648-653

Bherer, L., Erickson, K. I., & Liu-Ambrose, T. (2013). A review of the effects of physical activity and exercise on cognitive and brain functions in older adults. *Journal of aging research*, 2013.

Cassilhas, R. C., Viana, V. A., Grassmann, V., Santos, R. T., Santos, R. F., Tufik, S. E. R. G. I. O., & Mello, M. T. (2007). The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly. *Medicine and science in sports and exercise*, 39(8), 1401.

Cassilhas, R. C., Antunes, H. K. M., Tufik, S., & De Mello, M. T. (2010). Mood, anxiety, and serum IGF-1 in elderly men given 24 weeks of high resistance exercise 1, 2. *Perceptual and motor skills*, 110(1), 265-276

Cassilhas, R. C., Lee, K. S., Fernandes, J., Oliveira, M. G. M., Tufik, S., Meeusen, R., & De Mello, M. T. (2012). Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience*, 202, 309-317

Cassilhas, R. C., Lee, K. S., Venâncio, D. P., Oliveira, M. G. M., Tufik, S., & Mello, M. T. (2012). Resistance exercise improves hippocampus-dependent memory. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45(12), 1215-1220.

Churchill, J. D., Galvez, R., Colcombe, S., Swain, R. A., Kramer, A. F., & Greenough, W. T. (2002). Exercise, experience and the aging brain. *Neurobiology of aging*, 23(5), 941-955.

Clelland, C. D., Choi, M., Romberg, C., Clemenson, G. D., Fragniere, A., Tyers, P. & Bussey, T. J. (2009). A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. *Science*, 325(5937), 210-213.

Curlik II, D. M., & Shors, T. J. (2011). Learning increases the survival of newborn neurons provided that learning is difficult to achieve and successful. *Journal of cognitive neuroscience*, 23(9), 2159-2170

Colcombe, S., & Kramer, A. F. (2003). Fitness effects on the cognitive function of older adults a meta-analytic study. *Psychological science*, 14(2), 125-130.

Colcombe, S. J., Kramer, A. F., Erickson, K. I., Scalf, P., McAuley, E., Cohen, N. J., ... & Elavsky, S. (2004). Cardiovascular fitness, cortical plasticity, and aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(9), 3316-3321.

Cotman, C. W., & Engesser-Cesar, C. (2002). Exercise enhances and protects brain function. *Exercise and sport sciences reviews*, 30(2), 75-79.

Dagytè, G., Van der Zee, E. A., Postema, F., Luiten, P. G. M., Den Boer, J. A., Trentani, A., & Meerlo, P. (2009). Chronic but not acute foot-shock stress leads to temporary suppression of cell proliferation in rat hippocampus. *Neuroscience*, 162(4), 904-913.

Dalla, C., Bangasser, D. A., Edgecomb, C., & Shors, T. J. (2007). Neurogenesis and learning: acquisition and asymptotic performance predict how many new cells survive in the hippocampus. *Neurobiology of learning and memory*, 88(1), 143-148.

Drapeau, E., Mayo, W., Aurousseau, C., Le Moal, M., Piazza, P. V., & Abrous, D. N. (2003). Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(24), 14385-14390

Duan, X., Kang, E., Liu, C. Y., Ming, G. L., & Song, H. (2008). Development of neural stem cell in the adult brain. *Current opinion in neurobiology*, 18(1), 108-115

Ennaceur, A., Neave, N., & Aggleton, J. P. (1997). Spontaneous object recognition and object location memory in rats: the effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. *Experimental Brain Research*, 113(3), 509-519.

Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D. A., & Gage, F. H. (1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature medicine*, 4(11), 1313-1317.

Erickson, K. I., Prakash, R. S., Voss, M. W., Chaddock, L., Hu, L., Morris, K. S., ... & Kramer, A. F. (2009). Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans. *Hippocampus*, 19(10), 1030-1039.

Erickson, K. I., Voss, M. W., Prakash, R. S., Basak, C., Szabo, A., Chaddock, L., ... & Wojcicki, T. R. (2011). Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(7), 3017-3022.

Ernfors, P., Lee, K. F., & Jaenisch, R. (1994). Mice lacking brain-derived neurotrophic factor develop with sensory deficits.

Gould, E., Beylin, A., Tanapat, P., Reeves, A., & Shors, T. J. (1999). Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nature neuroscience*, 2(3), 260-265

Guiney, H., & Machado, L. (2013). Benefits of regular aerobic exercise for executive functioning in healthy populations. *Psychonomic bulletin & review*, 20(1), 73-86.

Hornberger Jr, T. A., & Farrar, R. P. (2004). Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Canadian journal of applied physiology*, 29(1), 16-31.

Huang, E. J., & Reichardt, L. F. (2001). Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annual review of neuroscience*, 24, 677.

Kaplan, M. S., & Hinds, J. W. (1977). Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science*, 197(4308), 1092-1094.

Kesner, R. P., Lee, I., & Gilbert, P. (2004). A behavioral assessment of hippocampal function based on a subregional analysis. *Reviews in the Neurosciences*, 15(5), 333-352.

Korte, M., Carroll, P., Wolf, E., Brem, G., Thoenen, H., & Bonhoeffer, T. (1995). Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(19), 8856-8860.

Korte, M., Griesbeck, O., Gravel, C., Carroll, P., Staiger, V., Thoenen, H., & Bonhoeffer, T. (1996). Virus-mediated gene transfer into hippocampal CA1 region restores long-term potentiation in brain-derived neurotrophic factor mutant mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(22), 12547-12552.

Kramer, A. F., & Willis, S. L. (2002). Enhancing the cognitive vitality of older adults. *Current Directions in Psychological Science*, 11(5), 173-177.

- Lee, M. C., Inoue, K., Okamoto, M., Liu, Y. F., Matsui, T., Yook, J. S., & Soya, H. (2013). Voluntary resistance running induces increased hippocampal neurogenesis in rats comparable to load-free running. *Neuroscience letters*, *537*, 6-10.
- Liu-Ambrose, T., Donaldson, M. G., Ahamed, Y., Graf, P., Cook, W. L., Close, J., ... & Khan, K. M. (2008). Otago Home-Based Strength and Balance Retraining Improves Executive Functioning in Older Fallers: A Randomized Controlled Trial. *Journal of the American Geriatrics Society*, *56*(10), 1821-1830.
- Liu-Ambrose, T., Nagamatsu, L. S., Graf, P., Beattie, B. L., Ashe, M. C., & Handy, T. C. (2010). Resistance training and executive functions: a 12-month randomized controlled trial. *Archives of internal medicine*, *170*(2), 170-178.
- Liu-Ambrose, T., Nagamatsu, L. S., Voss, M. W., Khan, K. M., & Handy, T. C. (2012). Resistance training and functional plasticity of the aging brain: a 12-month randomized controlled trial. *Neurobiology of aging*, *33*(8), 1690-1698.
- Lu, B., & Chow, A. (1999). Neurotrophins and hippocampal synaptic transmission and plasticity. *Journal of neuroscience research*, *58*(1), 76-87.
- Nagamatsu, L. S., Chan, A., Davis, J. C., Beattie, B. L., Graf, P., Voss, M. W., ... & Liu-Ambrose, T. (2013). Physical activity improves verbal and spatial memory in older adults with probable mild cognitive impairment: a 6-month randomized controlled trial. *Journal of aging research*, *2013*.
- Neeper, S. A., Gomezpinilla, F., Choi, J., & Cotman, C. (1995). Exercise and brain neurotrophins. *Nature*, *373*(6510), 109-109.
- Nokia, M. S., Sisti, H. M., Choksi, M. R., & Shors, T. J. (2012). Learning to learn: theta oscillations predict new learning, which enhances related learning and neurogenesis. *PloS one*, *7*(2), e31375-e31375.
- Patterson, S. L., Abel, T., Deuel, T. A., Martin, K. C., Rose, J. C., & Kandel, E. R. (1996). Recombinant BDNF rescues deficits in basal synaptic transmission and hippocampal LTP in BDNF knockout mice. *Neuron*, *16*(6), 1137-1145.

- Shors, T. J. (2008). From stem cells to grandmother cells: how neurogenesis relates to learning and memory. *Cell Stem Cell*, 3(3), 253-258.
- Shors, T. J. (2009). Saving new brain cells. *Scientific American*, 300(3), 46-54.
- Shors, T. J., Miesegaes, G., Beylin, A., Zhao, M., Rydel, T., & Gould, E. (2001). Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature*, 410(6826), 372-376.
- Shors, T. J., Anderson, M. L., Curlik, D., & Nokia, M. S. (2012). Use it or lose it: how neurogenesis keeps the brain fit for learning. *Behavioural brain research*, 227(2), 450-458
- Taupin, P. (2007). BrdU immunohistochemistry for studying adult neurogenesis: paradigms, pitfalls, limitations, and validation. *Brain research reviews*, 53(1), 198-214.
- Van Praag, H., Christie, B. R., Sejnowski, T. J., & Gage, F. H. (1999). Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(23), 13427-13431
- Van Praag, H., Kempermann, G., & Gage, F. H. (1999). Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature neuroscience*, 2(3), 266-270
- Van Praag, H., Shubert, T., Zhao, C., & Gage, F. H. (2005). Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *The Journal of neuroscience*, 25(38), 8680-8685.
- Vivar, C., Potter, M. C., & van Praag, H. (2013). All about running: synaptic plasticity, growth factors and adult hippocampal neurogenesis. In *Neurogenesis and Neural Plasticity* (pp. 189-210). Springer Berlin Heidelberg.
- Voss, M. W., Vivar, C., Kramer, A. F., & van Praag, H. (2013). Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity. *Trends in cognitive sciences*, 17(10), 525-544.
- Waddell, J., & Shors, T. J. (2008). Neurogenesis, learning and associative strength. *European Journal of Neuroscience*, 27(11), 3020-3028

