

# RESPON FISILOGIS LONG-TERM MEMORY TERHADAP PERUBAHAN MOLEKULER BDNF DI HIPOKAMPUS DAN PLASMA DARAH PADA BERBAGAI INTENSITAS AKTIVITAS FISIK TIKUS WISTAR

## *Physiological Response Of Long-term Memory To Molecular Changes Of Bdnf On Hippocampus And Plasma In Various Intensities Of Physical Activity Of Wistar Rat*

Leonardo Lubis , Ambrosius Purba, Setiawan, Nugraha Sutadipura

Universitas Padjadjaran

Email Korespondensi : [btपालam@gmail.com](mailto:btपालam@gmail.com)

### Abstrak

*Long-term Memory (LTM)* merupakan respon fisiologis sistem saraf yang melibatkan hipokampus dan molekul spesifik *Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF)*. LTM adalah hasil potensiasi hipokampus dan BDNF yang berulang dan dalam jangka waktu yang lama. Aktivitas fisik adalah salah satu faktor yang berperan dalam potensiasi hipokampus dan BDNF. Sampai saat ini belum diketahui dengan jelas mekanisme keterkaitan antara respon fisiologis LTM terhadap perubahan molekuler BDNF di hipokampus dan di plasma darah. Demikian pula belum diketahui dengan jelas pengaruh berbagai intensitas aktivitas fisik terhadap BDNF di hipokampus dan plasma darah. Subjek penelitian adalah tikus Wistar jantan dengan umur 7-8 minggu, dan berat badan antara 201-250 gram. Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan tujuan menganalisis respon fisiologis *Long-term Memory* berdasarkan waktu tempuh dan perubahan molekuler ekspresi mRNA dan protein BDNF hipokampus serta kadar BDNF plasma pada perlakuan berbagai intensitas aktivitas fisik. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa aktivitas fisik intensitas sedang lebih baik dalam memendekkan waktu tempuh (0,6260 vs 0,7270 vs 0,9400 vs 1,4000 menit ( $p < 0,05$ )), meningkatkan ekspresi mRNA BDNF (17,2320 vs 18,8800 vs 19,7540 vs 20,7750 Ct ( $p < 0,05$ )), meningkatkan penyebaran protein BDNF di badan sel dan axon Hipokampus ( $p < 0,05$ ) serta meningkatkan kadar BDNF Plasma darah (237,50010 vs 102,67860 vs 49,10720 vs 7,14290 pg/ml ( $p < 0,05$ )) bila dibandingkan dengan aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas berat dan kelompok Kontrol ( $t = -7,618$  vs  $-6,083$  vs  $-7,889$  vs  $-1,549$ ,  $p < 0,05$ ). Demikian pula, pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang terdapat korelasi dan hubungan fungsional antara *Long-term Memory* dengan ekspresi mRNA BDNF (Pearson  $r = -0,0764$ ,  $p < 0,05$ ), protein BDNF hipokampus (Spearman's rho: Badan sel:  $r = -0,582$ ; Axon:  $r = -0,436$ ,  $p < 0,05$ ) dan kadar BDNF Plasma darah (Pearson:  $r = 0,671$ ,  $p < 0,05$ ), yang lebih kuat dibandingkan dengan kelompok aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas berat dan Kontrol ( $r_2 = 100\%$ ,  $r_2 = 96,7\%$ ,  $r_2 = 65,7\%$ ,  $r_2 = 17,8$ ). Simpulan penelitian adalah aktivitas fisik intensitas sedang paling baik meningkatkan respon fisiologis LTM terhadap perubahan molekuler BDNF di hipokampus dan Plasma darah tikus Wistar. Demikian pula BDNF Plasma dapat dijadikan model untuk analisis molekuler BDNF dan fisiologis Hipokampus.

**Kata kunci :** Intensitas, LTM, BDNF, Hipokampus, Plasma

### Abstract

*Long-term memory (LTM)* is a physiological response of the nervous system that involves brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the hippocampus. LTM is the result of repeatedly and long-term potentiation of BDNF in the hippocampus. Beside of the hippocampus, BDNF can also be found in the blood plasma. Physical activity is one of the factors that play a role in the potentiation of BDNF in the hippocampus and blood plasma. But not yet known, the mechanism of the effect of physical activity in various intensity on the physiological response of LTM and molecular changes of BDNF both in the hippocampus and the blood plasma. Similarly, unknown link between BDNF in the blood plasma with the molecular changes of BDNF in the hippocampus on the physiological response mechanism of LTM. The purpose of this study was to analyze the physiological response of LTM to the molecular changes of BDNF in the hippocampus and blood plasma in the treatment of various intensities of wistar rats' physical activity. Subjects were male Wistar rats with 7-8 weeks of age and weighing between 201-250 grams. This research is an experimental study with pre (day-1) and post (day-14) design. LTM physiological response reflected by differences of travel time in swimming test. Molecular changes reflected by the changes in the expression of mRNA and protein of BDNF in the hippocampus and blood plasma BDNF. Treatment of physical activity on the subjects is running on the Animal Treadmill with grouping of the physical activity: light intensity at a speed of 10m/min, moderate intensity at a speed of 20 m/min and heavy intensity at a speed of 30 m/min. The treatment on the subjects with a duration of 30 minutes. Then, analysis of data on pre (day-1) and post (day-14) which are : LTM response based on travel time swimming test, the expression of mRNA and protein of BDNF in hippocampus based on RT-PCR and immunohistochemistry and blood plasma BDNF expression by ELISA. The results showed that moderate-intensity of physical activity is better in shortening the travel time (0.6260 vs 0.7270 vs 0.9400 vs 1.4000 min ( $p < 0.05$ )), increase the expression of BDNF mRNA (17.2320 vs. 18.8800 vs 19.7540 vs 20.7750 Ct ( $p < 0.05$ )), increase the expression of BDNF protein in the hippocampus by immunohistochemical staining preparations, as well as improving blood plasma BDNF levels (237.50010 vs. 102.67860 vs. 49.10720 vs. 7.14290 pg/ml ( $p < 0.05$ )) compared with the light intensity, heavy intensity and control ( $t = -7.618$  vs.  $-6.083$  vs.  $-7.889$  vs.  $-1.549$ ,  $p < 0.05$  ). Similarly, in the group of moderate intensity physical activity, correlation and functional relationship between LTM with BDNF mRNA expression (Pearson  $r = -0.0764$ ,  $p < 0.05$ ), hippocampal BDNF protein (Spearman's rho: Body cell:  $r = -0.582$ ; Axon:  $r = -0.436$ ,  $p < 0.05$ ) and blood plasma BDNF levels (Pearson:  $r = 0.671$ ,  $p < 0.05$ ), which is stronger than the light intensity, heavy intensity of physical activity and control ( $r_2 = 100\%$ ,  $r_2 = 96.7\%$  =  $65.7\%$   $r_2$ ,  $r_2 = 17.8\%$ ). The conclusion was the moderate intensity of physical activity most well improve the LTM physiological response to the molecular changes of BDNF in the hippocampus and the blood plasma of Wistar rat.

**Key words:** Intensity, LTM, BDNF, hippocampus, plasma

## Pendahuluan

Olahraga yang teratur dan terprogram dengan baik akan meningkatkan fungsi sistem saraf, jantung-paru dan pembuluh darah. Akan tetapi sampai saat ini belum diketahui dengan jelas mekanisme keterkaitan antara respon fisiologis untuk optimalisasi fungsi sistem saraf berupa *Long-term Memory* dengan perubahan molekuler yang terjadi di dalam sistem saraf setelah berolahraga pada berbagai intensitas. Walaupun para ahli telah menemukan pada orang yang teratur berolahraga terjadi perubahan fisik fisiologis pada sistem saraf, antara lain pada hipokampus. Akan tetapi sampai saat ini penelitian pada level seluler dan molekuler belum dapat menjelaskan mekanisme keterkaitan antara perubahan fisik fisiologis hipokampus dengan perubahan molekuler pada hipokampus pada berbagai intensitas olahraga. Hipokampus adalah organ otak bagian dari sistem limbik yang berperan dalam mekanisme optimalisasi *Long-term Memory*. *Long-term Memory* pada hewan coba tercermin dari memendeknya waktu tempuh pada uji renang. Oleh karena adanya perbedaan dari hasil penelitian terdahulu tentang pengaruh aktivitas fisik terhadap respon fisiologis hipokampus berupa *Long-term Memory*, selain itu belum diketahui tentang mekanisme respon fisiologis *Long-term Memory* terhadap perubahan molekuler berupa ekspresi mRNA BDNF hipokampus, gambaran ekspresi protein BDNF Hipokampus dan kadar BDNF plasma darah pada berbagai intensitas aktivitas fisik pada tikus Wistar, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui keterkaitan antara *Long-term Memory* dengan perubahan molekuler di hipokampus pada berbagai intensitas aktivitas fisik.

## Metode

Subjek penelitian adalah tikus Wistar jantan dewasa (*Rattus Norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi, yaitu: Umur 7-8 minggu, Berat badan 201 gram – 250 gram, dalam keadaan sehat serta tidak memenuhi kriteria eksklusi, yaitu: Tikus cedera, Tikus tidak melakukan aktivitas fisik sebagaimana mestinya.

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental dengan desain *pre* (hari-1) dan *post* (hari-14) serta terbagi atas 8 kelompok penelitian, yaitu K-1 (kontrol, dikorbankan pada hari-1), K-14 (kontrol, dikorbankan pada hari-14), R-1 (perlakuan intensitas ringan, kecepatan treadmill 10 m/mnt dan dikorbankan pada hari-1), R-14 (perlakuan intensitas ringan, kecepatan treadmill 10 m/mnt dan dikorbankan pada hari-14), S-1 (perlakuan intensitas sedang, kecepatan treadmill 20 m/mnt dan dikorbankan pada hari-1), S-14 (perlakuan intensitas sedang, kecepatan treadmill 20 m/mnt dan dikorbankan pada hari-14), B-1 (perlakuan intensitas berat, kecepatan treadmill 30 m/mnt dan dikorbankan pada hari-1) dan B-14 (perlakuan intensitas berat, kecepatan treadmill 30 m/mnt dan dikorbankan pada hari-14). Perlakuan adalah aktivitas fisik berupa lari

pada treadmill tikus dengan durasi 30 mnt dan setelahnya dilakukan uji renang. Kontrol tidak mendapat perlakuan, hanya dilakukan uji renang. Berdasarkan rumus federal ditetapkan jumlah sampel tiap kelompok 5 ekor sehingga diperlukan total sampel 40 ekor.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Unit Penelitian Kedokteran FK-UNPAD, Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas FK-UNPAD dan Laboratorium Patologi Anatomi RS. Hasan Sadikin Bandung. Waktu penelitian dilakukan pada periode Juli - Oktober 2012.

Pengukuran waktu tempuh dilakukan pada uji renang. Uji renang adalah uji yang dilakukan terhadap tikus wistar dengan cara memasukan tikus wistar ke dalam wadah renang dan diukur waktu berenang yang diperlukan tikus untuk mencapai *platform* atau sasaran tumpuan yang diletakkan di dalam wadah renang. Waktu berenang yang diperlukan tikus di ukur dengan satuan detik.

Pemeriksaan ekspresi mRNA BDNF hipokampus dilakukan dengan metode RT-PCR dengan satuan Ct (*Cycling-treshold*). Satuan Ct (*Cycling-treshold*) menunjukkan ambang batas siklus reaksi pada metode RT-PCR sebagai gambaran ekspresi mRNA BDNF di hipokampus, mulai dari proses amplifikasi sampai proses replikasi. Metode pemeriksaan RT-PCR menggunakan primer oligonukleotida RNA Rat BDNF; Forward 5'AGCAGCCCTGGTATCAGCTA 3' → Ekson 18, Reverse 5'TCGCCAAGTTCTGAAGGAGT 3' → Ekson 19 dan Probe 5'ATAGAATGCATCACCCAGGG 3'. Pemeriksaan ekspresi Protein BDNF hipokampus dilihat dengan metode pewarnaan imunohistokimia. Prinsip kerja pewarnaan imunohistokimia adalah reaksi anti gen antibodi dimana protein BDNF akan berikatan dengan antibodinya. Antibodi anti Rat BDNF terkandung dalam reagen BDNF N20 Santa Cruz, USA. Pengamatan ekspresi protein BDNF hipokampus dengan metode preparat pewarnaan imunohistokimia, difokuskan pada area CA1 (*Cornu ammonis 1*). Pemeriksaan kadar BDNF Plasma dilakukan dengan mengambil darah dari jantung sebanyak 3cc yang disimpan dalam vacu tainer 10cc yang mengandung EDTA. Kadar BDNF Plasma diukur dengan menggunakan metode ELISA dalam satuan pikogram per milliliter (pg/ml).

Analisis data penelitian diproses dengan program SPSS V.20.0, untuk menganalisis perbedaan respon fisiologis LTM berdasarkan waktu tempuh (detik) dan perubahan molekuler BDNF (mRNA BDNF (Ct), Protein BDNF (%) dan BDNF Plasma (pg/ml)) serta hubungan fungsional antara respon fisiologis LTM dengan perubahan molekuler BDNF pada berbagai intensitas aktivitas fisik. Seluruh prosedur penelitian dilakukan menurut persetujuan Komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Subjek diperlakukan sesuai kelayakan dan sebagai makhluk perasa (*sentient*), sesuai dengan perjanjian Helsinki (*The Declaration of Helsinki*) tahun 2004 yang diterbitkan oleh *World Medical Association*.<sup>1,2</sup>

**Hasil Penelitian**

Gambaran karakteristik fisik subjek, berupa berat badan (gram) dalam keadaan homogen. Keadaan homogen menunjukkan berat badan subjek pada awal perlakuan (hari-1) antar masing-masing kelompok relatif sama, demikian pula halnya berat badan antar masing-masing kelompok sesudah perlakuan (hari-14) relatif sama.

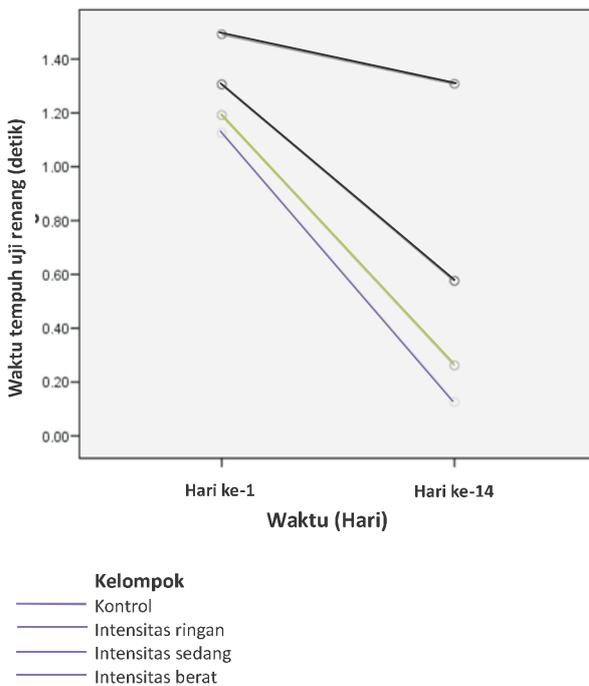
Tabel 1 menunjukkan terdapat respon fisiologis LTM berdasarkan pengukuran waktu tempuh uji renang terhadap berbagai intensitas aktivitas fisik.

**Tabel 1** Uji Anova untuk mengetahui perbedaan respon fisiologis Long-term Memory antara kelompok aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar

Variabel	Kelompok	Waktu Hari	$\bar{X}$ (menit)	$\pm$	SD	Uji Anova	p
Waktu tempuh	Kontrol	Hari-1	1,49	$\pm$	0,06	3,423	0,008
		Hari-14	1,31	$\pm$	0,05		
	Intensitas ringan	Hari-1	1,19	$\pm$	0,08		
		Hari-14	0,26	$\pm$	0,25		
	Intensitas Sedang	Hari-1	1,13	$\pm$	0,04		
		Hari-14	0,13	$\pm$	0,05		
	Intensitas Berat	Hari-1	1,31	$\pm$	0,07		
		Hari-14	0,58	$\pm$	0,1		

Keterangan : p = signifikansi uji anova, pengujian bermakna pada p<0,05

Berdasarkan tabel 1 hasil uji anova (p<0,05) menunjukkan terdapat perbedaan waktu tempuh sebelum dan sesudah perlakuan pada semua kelompok subjek. Selanjutnya untuk mengetahui respon fisiologis LTM terbaik di antara seluruh kelompok subjek dilakukan uji *post hoc*. Hasil uji *Post hoc* terlihat pada gambar 1.



**Gambar 1** Grafik hasil Uji Post hoc tentang perbedaan respon fisiologis LTM antara kelompok aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar

Hasil analisis Uji *Post hoc*, yang tercantum pada gambar 1 menunjukkan bahwa respon fisiologis LTM terbaik berdasarkan waktu tempuh uji renang yang tersingkat, terdapat pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang pada tikus wistar. Hasil uji *Post hoc* respon fisiologis LTM berdasarkan waktu tempuh uji renang secara berturut-turut yaitu pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang, ringan, berat dan kontrol sebagai berikut : 0,6260 vs 0,7270 vs 0,9410 vs 1,4000 detik.

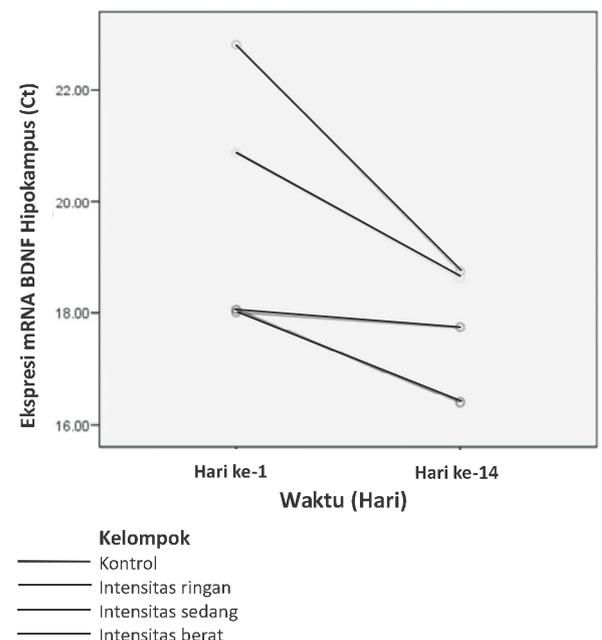
Tabel 2 menunjukkan terdapat perubahan molekuler ekspresi mRNA BDNF berdasarkan *cycling threshold* dengan metode RT-PCR terhadap berbagai intensitas aktivitas fisik.

**Tabel 2** Uji Anova untuk mengetahui adanya perubahan molekuler ekspresi mRNA BDNF Hipokampus pada kelompok aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar

Variabel	Kelompok	Waktu Hari	$\bar{X}$	$\pm$	SD	Uji Anova	p
<i>cycling threshold</i> ekspresi mRNA BDNF Hipokampus	Kontrol	Hari-1	18,01	$\pm$	1,46	10,231	0,000
		Hari-14	17,75	$\pm$	1,28		
	Intensitas ringan	Hari-1	22,80	$\pm$	4,06		
		Hari-14	18,75	$\pm$	0,71		
	Intensitas Sedang	Hari-1	20,87	$\pm$	0,57		
		Hari-14	18,64	$\pm$	0,78		
	Intensitas Berat	Hari-1	18,06	$\pm$	0,78		
		Hari-14	16,40	$\pm$	0,55		

Keterangan : p = signifikansi uji anova, pengujian bermakna pada p<0,05

Berdasarkan tabel 2, hasil uji anova (p<0,05) menunjukkan terdapat perbedaan ekspresi mRNA BDNF berdasarkan *cycling threshold* dengan metode RT-PCR sebelum dan sesudah perlakuan pada semua kelompok subjek. Selanjutnya untuk mengetahui ekspresi mRNA BDNF berdasarkan *cycling threshold* dengan metode RT-PCR terbaik di antara seluruh kelompok subjek dilakukan uji *post hoc*. Hasil uji *Post hoc* terlihat pada gambar 2.



**Gambar 2** Grafik hasil Uji Post hoc untuk mengetahui perbedaan ekspresi mRNA BDNF Hipokampus pada kelompok aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar

Hasil analisis Uji *Post hoc*, yang tercantum pada gambar 2 menunjukkan bahwa perubahan molekuler ekspresi mRNA BDNF berdasarkan *cycling threshold* dengan metode RT-PCR yang terbaik, terdapat pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang pada tikus wistar. Hasil uji *Post hoc* perubahan molekuler ekspresi mRNA BDNF dengan metode RT-PCR secara berturut-turut yaitu pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang, ringan, berat dan kontrol sebagai berikut : 17,2320 vs 18,8800 vs 19,7540 vs 20,7750.

Tabel 3, tabel 4, menunjukkan terdapat perubahan ekspresi protein BDNF Hipokampus berdasarkan jumlah preparat pewarnaan imunohistokimia yang dinilai berdasarkan intensitas pulsan warna coklat pada area CA1 terhadap berbagai intensitas aktivitas fisik.

**Tabel. 3 Uji Crosstabs untuk mengetahui perbedaan ekspresi protein BDNF di badan sel Hipokampus antara kelompok kontrol, aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat tikus wistar pada hari-1 dan hari-14**

Waktu Hari		Kontrol	Intensitas ringan	Intensitas Sedang	Intensitas Berat
Hari-1	Jumlah preparat	1	2	2	3
	Badan (-) kuat (%)	20%	40%	40%	60%
Hari-14	Jumlah preparat	1	4	5	1
	(-) kuat (%)	20%	80%	100%	20%

Keterangan : (+) kuat : preparat terpulas warna coklat dgn intensitas kuat (%)

**Tabel. 4 Uji Crosstabs untuk mengetahui perbedaan ekspresi protein BDNF di axon Hipokampus antara kelompok kontrol, aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat tikus wistar pada hari-1 dan hari-14**

Waktu Hari		Kontrol	Intensitas ringan	Intensitas Sedang	Intensitas Berat
Hari-1	Jumlah preparat	1	1	2	3
	Axon (+) kuat (%)	20%	20%	40%	60%
Hari-14	Jumlah preparat	2	2	5	1
	(+) kuat (%)	40%	40%	100%	20%

Keterangan : (+) kuat : preparat terpulas warna coklat dgn intensitas kuat (%)

Hasil analisis Uji *Crosstabs* berdasarkan penilaian preparat imunohistokimia, yang tercantum pada tabel 3, tabel 4, menunjukkan bahwa ekspresi protein BDNF Hipokampus yang terbaik terdapat pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang pada tikus wistar.

Tabel 5 menunjukkan terdapat perubahan molekuler kadar BDNF plasma darah berdasarkan metode ELISA terhadap berbagai intensitas aktivitas fisik.

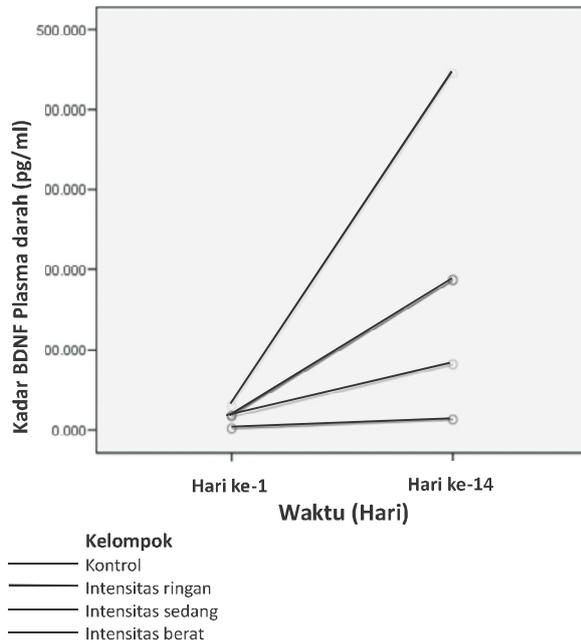
**Tabel.5 Uji Anova untuk mengetahui adanya perubahan molekuler kadar BDNF plasma darah pada aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar**

Variabel	Kelompok	Waktu Hari	$\bar{X}$	$\pm$	SD	Uji Anova	p
Kadar BDNF Plasma darah	Kontrol	Hari-1	0,000	$\pm$	0,000	16,042	0,000
		Hari-14	12,500	$\pm$	14,940		
	Intensitas ringan	Hari-1	16,072	$\pm$	7,470		
		Hari-14	82,143	$\pm$	23,111		
	Intensitas Sedang	Hari-1	30,357	$\pm$	14,940		
		Hari-14	444,643	$\pm$	120,684		
Intensitas Berat	Hari-1	17,857	$\pm$	6,313			
	Hari-14	187,500	$\pm$	47,666			

Keterangan : Pengujian bermakna pada  $p < 0,05$

Berdasarkan tabel 5, hasil uji anova ( $p < 0,05$ ) menunjukkan terdapat perbedaan kadar BDNF plasma darah sebelum dan sesudah perlakuan pada semua

kelompok subjek. Selanjutnya untuk mengetahui kadar BDNF plasma darah terbaik di antara seluruh kelompok subjek dilakukan Uji *Post hoc*. Hasil Uji *Post hoc* terlihat pada gambar 3.



**Gambar 3 Grafik perbedaan perubahan molekuler berupa perubahan kadar BDNF plasma darah terhadap aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar**

Hasil analisis Uji *Post hoc*, yang tercantum pada gambar 3 menunjukkan bahwa perubahan molekuler berupa perubahan kadar BDNF plasma darah yang terbaik, terdapat pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang pada tikus wistar. Hasil uji *Post hoc* perubahan kadar BDNF plasma darah secara berturut-turut yaitu pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang, ringan, berat dan kontrol sebagai berikut: 237,50010 vs 102,67860 vs 49,10720 vs 7,14290 pg/ml.

Tabel 6 menunjukkan korelasi antara waktu tempuh uji renang dengan ekspresi mRNA BDNF Hipokampus dan kadar BDNF Plasma pada aktivitas fisik tikus Wistar.

**Tabel. 6 Uji Pearson untuk mengetahui korelasi antara respon fisiologis Long-term Memory (detik) dengan perubahan molekuler ekspresi mRNA BDNF Hipokampus (Ct) dan kadar BDNF Plasma (pg/ml) pada aktivitas fisik Tikus Wistar**

	Aktivitas Fisik	Ekspresi mRNA BDNF	Kadar BDNF Plasma
Waktu tempuh	r	-0,331*	0,671*
	p	0,037	0,023
			0,000

Keterangan: \* :Korelasi kuat

\*\* :Korelasi sangat kuat

r :Hasil Uji Korelasi Pearson

p :signifikansi hasil Uji Korelasi Pearson, pengujian bermakna ( $p < 0,05$ )

Berdasarkan tabel 6, hasil uji Pearson ( $p < 0,05$ ) menunjukkan korelasi positif antara waktu tempuh dengan ekspresi mRNA BDNF dengan kekuatan korelasi kuat. Hasil uji Pearson ( $p < 0,05$ ) juga menunjukkan

korelasi negatif antara waktu tempuh dengan kadar BDNF Plasma, dengan kekuatan korelasi sangat kuat.

Tabel 7 menunjukkan korelasi antara waktu tempuh uji renang dengan ekspresi protein BDNF di badan sel dan axon Hipokampus pada aktivitas fisik tikus Wistar.

Tabel. 7 Uji Spearman's rho untuk mengetahui korelasi antara respon fisiologis Long-term Memory dengan perubahan molekuler Protein BDNF di badan sel dan axon neuron Hipokampus pada aktivitas fisik tikus Wistar

		Badan sel	Axon	Aktivitas Fisik
Waktu tempuh	r	-0,582**	-0,436**	-0,422**
	p	0,000	0,005	0,007

Keterangan: \* :Korelasi kuat  
 \*\*:Korelasi sangat kuat  
 r :Hasil Uji Korelasi Spearman's rho  
 p :signifikansi hasil Uji Korelasi Spearman's rho, pengujian bermakna (p<0,05)

Berdasarkan tabel 7, hasil uji *Spearman's rho* (p<0,05) menunjukkan korelasi negatif antara waktu tempuh dengan ekspresi protein BDNF di badan sel dan axon hipokampus, dengan kekuatan korelasi sangat kuat.

Tabel 8 Uji regresi linier dan koefisien determinasi untuk mengetahui hubungan fungsional antara respon fisiologis LTM dengan perubahan molekuler mRNA BDNF dan BDNF Plasma pada berbagai intensitas aktivitas fisik tikus wistar

Kelompok	Regresi Linier		Koefisien Determinasi	
	hari-1	hari-14	hari-1	hari-14
Intensitas Ringan	$Y=0,799-0,010X_1+0,041X_2$	$Y=0,972-0,001X_1+0,021X_2$	99%	96,7%
Intensitas Sedang	$Y=1,123-0,007X_1+0,013X_2$	$Y=2,488-0,027X_1-0,002X_2$	90,6%	100%
Intensitas Berat	$Y=1,950-0,041X_1+0,002X_2$	$Y=0,730-0,010X_1+2,934X_2$	29,6%	65,7%
Kontrol	$Y=0,191-0,001X_1+0,046X_2$	$Y=0,028+0,010X_1+0,000X_2$	66,2%	17,8%

Keterangan :  
 Y = respon fisiologis berupa LTM berdasarkan pengukuran waktu tempuh uji renang  
 X<sub>1</sub>= perubahan molekuler berupa ekspresi mRNA BDNF hipokampus  
 X<sub>2</sub>= perubahan molekuler berupa kadar BDNF Plasma

Hasil uji menunjukkan bahwa : Hubungan fungsional terkuat antara respon fisiologis LTM berdasarkan pengukuran waktu tempuh dgn perubahan molekuler BDNF di Hipokampus dan plasma terdapat pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang.

Untuk mengetahui pengaruh berbagai Intensitas aktivitas fisik terhadap ekspresi gen mRNA BDNF, BDNF Plasma dan Waktu Tempuh pada tikus Wistar dilakukan analisis *independent samples test* (p<0,05).

Tabel.9 Independent samples test (p<0,05) untuk mengetahui pengaruh berbagai Intensitas aktivitas fisik terhadap ekspresi gen mRNA BDNF, BDNF Plasma dan Waktu Tempuh pada tikus Wistar

Kelompok	Waktu Tempuh	mRNA BDNF	Kadar BDNF Plasma
Intensitas Ringan	p=0,000	p=0,089	p=0,000
Intensitas Sedang	p=0,000	p=0,001	p=0,001
Intensitas Berat	p=0,000	p=0,005	p=0,001
Kontrol	p=0,001	p=0,773	p=0,187

Keterangan : p= signifikansi pengujian bermakna pada p<0,05

Hasil uji menunjukkan bahwa: terjadi pemendekan waktu tempuh dan peningkatan ekspresi mRNA BDNF

serta kadar BDNF Plasma pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat pada Tikus Wistar.

**Diskusi**

**1) Perbedaan respon fisiologis Long-term Memory terhadap aktivitas fisik intensitas sedang, aktivitas fisik intensitas ringan dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar**

Berdasarkan Uji Anova (p<0,05) pada tabel 1 dan analisis lanjutan dengan uji *Post hoc* (p<0,05) yang tercantum pada tabel 2, menunjukkan bahwa aktivitas fisik intensitas sedang lebih baik dalam meningkatkan LTM berdasarkan pemendekan waktu tempuh uji renang dibandingkan dengan pengaruh aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas berat dan kontrol (0,6260 vs 0,7270 vs 0,9400 vs 1,4000 detik). Hal ini didukung oleh hasil analisis *independent samples test* (p<0,05).

Pada penelitian ini ditemukan aktivitas fisik intensitas sedang lebih baik dalam meningkatkan respon fisiologis berupa LTM berdasarkan pemendekan waktu tempuh uji renang tikus wistar. Beban perlakuan berlari diatas treadmill tikus dengan kecepatan 20 m/mnt tergolong aktivitas fisik aerobik intensitas sedang yang dapat meningkatkan fungsi jantung paru dan pembuluh darah. Peningkatan fungsi jantung paru dan pembuluh darah terlihat dari meningkatnya mikro sirkulasi sehingga terjadi peningkatan suplai oksigen dan nutrisi terhadap jaringan. Peningkatan suplai oksigen dan nutrisi jaringan khususnya pada sistem saraf inilah yang memungkinkan meningkatkan respon fisiologis sistem saraf berupa LTM. Proses inilah yang dapat menjelaskan terjadinya optimalisasi fungsi otak berupa LTM yang tergambar dari pemendekan waktu tempuh uji renang pada tikus wistar. Hal berbeda terjadi pada aktivitas fisik intensitas ringan dimana intensitas ringan tidak cukup untuk menstimulasi terjadinya peningkatan mikrosirkulasi seperti yang dijelaskan diatas. Sedangkan pada aktivitas fisik intensitas berat terjadi kecenderungan proses metabolisme pembentukan energi secara anaerobik yang selain menghasilkan energi juga banyak memproduksi asam laktat. Tingginya konsentrasi asam laktat dalam darah akan menurunkan kinerja mitokondria yang berfungsi untuk pembentukan energi. Hal inilah yang dapat menjelaskan pengaruh yang tidak kuat terhadap pembentukan LTM.

Dari uraian diatas dapat menjelaskan mekanisme pengaruh aktivitas fisik intensitas sedang yang lebih baik efeknya terhadap respon fisiologis berupa LTM berdasarkan pemendekan waktu tempuh uji renang dibandingkan dengan efek aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas berat dan kontrol pada tikus Wistar.

**2) Perbedaan perubahan molekuler berupa ekspresi mRNA dan protein BDNF Hipokampus terhadap aktivitas fisik intensitas sedang, aktivitas fisik intensitas ringan dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar**

Hasil uji Anova (p<0,05) pada tabel 2 dan analisis

lanjutan dengan uji *Post hoc* pada gambar 2 serta hasil uji *Crosstabs* pada tabel 3 dan 4 menunjukkan bahwa aktivitas fisik intensitas sedang menyebabkan peningkatan ekspresi mRNA dan protein BDNF Hipokampus yang lebih baik dibandingkan dengan pengaruh aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas berat dan kontrol (17,2320 vs 18,8800 vs 19,7540 vs 20,7750 Ct).

Protein BDNF merupakan derivat *Nerve Growth Factor* (NGF) yang dikodekan oleh gen BDNF.10,11 BDNF bekerja secara khusus terhadap kelangsungan hidup neuron dan menstimulasi pertumbuhan serta diferensiasi neuron, yang disebut neurogenesis. Produksi protein baru dapat terjadi oleh karena adanya stimulasi aktivitas fisik. Hal ini menyebabkan pelepasan ion kalsium pada neuron hipokampus. Ion kalsium tersebut akan mengaktifasi kaskade sinyal intraseluler untuk pembentukan korteks, prekorteks, dan dominan pada hipokampus oleh molekul spesifik, yaitu BDNF.14-16 BDNF berfungsi untuk mendorong pertumbuhan dan diferensiasi neuron baru serta mendukung kemampuan neuron untuk bertahan hidup. BDNF aktif di otak pada area Cornuamnosis 1 (CA1) yang sangat penting untuk proses learning dan memory. BDNF dapat memengaruhi proses *learning* dan *memory* melalui ekspresi gen mRNA BDNF dan sintesa protein BDNF di area Cornuamnosis 1 (CA1) pada hipokampus. Proses neurogenesis yang terjadi akibat stimulasi dari neurotrophin BDNF. BDNF merupakan neurotrophin yang paling aktif menstimulasi dan mengontrol proses neurogenesis. Aktivitas fisik dapat menstimulasi neurogenesis di hipokampus dan proses neurogenesis tersebut dipengaruhi oleh BDNF yang terdapat di hipokampus.

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan stimulasi neuron dengan aktivitas fisik menyebabkan peningkatan regulasi gen protein. Gen protein ini bersifat proteksi dan diproduksi di sitoplasma neuron hipokampus. Perubahan fisik hipokampus berupa peningkatan kompleksitas dendrit yang dipengaruhi oleh aktivitas fisik dapat ditunjukkan dari hasil penelitian yang dilakukan pada lansia yang sudah meninggal dengan memiliki riwayat melakukan aktivitas fisik teratur selama hidupnya, ditemukan BDNF hipokampus yang terekspresi lebih signifikan pada gambaran PCR bila dibandingkan dengan kelompok sedenter. Penelitian lainnya pada kelompok yang selama hidupnya melakukan jalan kaki dengan teratur, ditemukan perubahan molekuler berupa ekspresi BDNF hipokampus yang lebih signifikan pada gambaran PCR dibandingkan dengan kelompok sedenter. Ekspresi BDNF diperlukan untuk mempertahankan fungsi hipokampus. Meskipun pada penelitian tersebut tidak menjelaskan secara jelas intensitas aktivitas fisik yang dilakukan, akan tetapi aktivitas jalan kaki pada usia lansia secara fisiologi olahraga dapat digolongkan kedalam aktivitas fisik intensitas ringan-sedang.

Dari uraian diatas dapat menjelaskan mekanisme perubahan molekuler berupa perubahan *cycling threshold* ekspresi mRNA BDNF Hipokampus

berdasarkan metode RT-PCR dan ekspresi protein BDNF Hipokampus lebih baik pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang dibandingkan dengan aktivitas fisik intensitas ringan dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar.

### 3) Perbedaan perubahan molekuler kadar BDNF plasma darah terhadap aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas sedang dan aktivitas fisik intensitas berat pada tikus Wistar

Hasil Uji Anova ( $p < 0,05$ ) pada tabel 4 dan analisis lanjutan dengan uji *Post hoc* ( $p < 0,05$ ) menunjukkan aktivitas fisik intensitas sedang lebih baik dalam meningkatkan kadar BDNF Plasma berdasarkan metode ELISA dibandingkan dengan pengaruh aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas berat dan kontrol (237,50010 vs 102,67860 vs 49,10720 vs 7,14290 pg/ml). Hal tersebut diatas didukung oleh uji *Independent Samples Test* ( $p < 0,05$ ) menunjukkan bahwa aktivitas fisik intensitas sedang lebih baik meningkatkan perubahan molekuler berupa peningkatan kadar BDNF plasma dibandingkan dengan pemberian perlakuan aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas berat dan kontrol ( $t = -7,618$ , sig.= 0,001 vs  $t = -6,083$ , sig.=0,000 vs  $t = -7,889$ , sig.=0,001 vs  $t = -1,549$ , sig.=0,187).

Hasil penelitian terdahulu pada 21 orang dewasa yang diberi perlakuan latihan fisik, ditemukan peningkatan kemampuan *learning* dan *memory* ( $750.5 \pm 19.0$  ms vs  $664.3 \pm 14.9$  ms). Selain peningkatan kemampuan *learning* dan *memory* ditemukan pula peningkatan protein spesifik BDNF melalui pemeriksaan plasma darah. Akan tetapi pada penelitian ini tidak menjelaskan pengaruh intensitas latihan fisik yang diberikan. Kamullainen *et al.*, pada tahun 2008, melakukan penelitian tentang pengaruh aktivitas fisik terhadap fungsi kognisi pada orang Finlandia Timur, berumur 57-79 tahun, dengan jumlah sampel sebanyak pria 684 dan wanita 705 yang dipilih secara acak. Kelompok wanita memiliki fungsi kognisi yang lebih tinggi dibanding pria. Pada penelitian yang dilakukan Kamullainen *et al.*, juga tidak membedakan jenis perlakuan dan intensitas aktivitas fisik. Akan tetapi, aktivitas fisik yang dilakukan oleh kelompok usia 57-79 tahun, secara fisiologi olahraga dapat digolongkan dalam aktivitas fisik ringan-sedang.

BDNF dapat ditemukan di hampir seluruh bagian sistem saraf, namun dapat pula ditemukan di dalam plasma darah. BDNF adalah molekul yang berperan dalam modulasi plastisitas otak. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa Kadar BDNF plasma berkorelasi dengan skor MMSE pada pemeriksaan LTM. Pada penelitian tersebut menunjukkan pula bahwa : kadar BDNF Plasma yang lebih rendah pada kelompok yang sedenter dibandingkan dengan kelompok yang rutin melakukan aktivitas fisik. Aktivitas fisik dengan intensitas sedang akan meningkatkan sirkulasi dan kadar BDNF plasma darah.

Dari uraian diatas dapat menjelaskan mekanisme pengaruh aktivitas fisik intensitas sedang yang lebih baik terhadap peningkatan perubahan molekuler

berupa peningkatan kadar BDNF plasma darah dibandingkan dengan pengaruh aktivitas fisik intensitas ringan, aktivitas fisik intensitas berat dan kontrol pada tikus Wistar.

#### 4) Hubungan fungsional antara respon fisiologis LTM dengan perubahan molekuler ekspresi mRNA BDNF, protein BDNF hipokampus dan kadar BDNF plasma pada berbagai Intensitas Aktivitas Fisik Tikus Wistar

Hasil uji korelasi *Pearson* ( $p < 0,05$ ) pada tabel 6 dan hasil uji korelasi *spearman rho* pada tabel 7 menunjukkan adanya korelasi yang kuat antara respon fisiologis LTM berdasarkan waktu tempuh uji renang dengan perubahan molekuler ekspresi mRNA dan protein BDNF hipokampus serta BDNF plasma darah tikus wistar.

Hasil analisis regresi linier dan koefisien determinan pada tabel 8 menunjukkan adanya hubungan fungsional antara respon fisiologis berupa LTM berdasarkan perubahan waktu tempuh uji renang dengan perubahan molekuler ekspresi mRNA BDNF hipokampus dan kadar BDNF plasma, dimana hubungan fungsional terkuat terdapat pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang, aktivitas fisik intensitas berat dan kontrol tikus wistar ( $Y = 2,488 - 0,027X_1 + 0,002X_2$ ;  $r^2 = 1,000 = 100\%$ ).

Aktivitas fisik yang dilakukan secara teratur dan terukur, menyebabkan terjadinya potensiasi sinaptik yang bertahan lama. Proses potensiasi sinaptik yang bertahan lama ini melibatkan sintesis protein BDNF dalam neuron hipokampus khususnya neuron postsinaptik. Peningkatan sintesis protein BDNF dalam neuron hipokampus berperan dalam terbentuknya LTM. Terbentuknya LTM erat kaitannya dengan LTP yang timbul dari interaksi antara respon fisiologis dan perubahan molekuler yang berada di tingkat sirkuit lokal pada hipokampus. LTP adalah peningkatan kekuatan sinaptik yang persisten sebagai dampak stimulasi dengan frekuensi tertentu dari molekul kimiawi di sinaps. Respon terhadap LTP dan LTM tergantung pada cepat lambatnya perubahan molekuler berupa sintesis protein baru berupa neurotransmitter. *Late-Long Term Potentiation* (L-LTP) merupakan proses potensiasi sinaptik yang bertahan lama. Proses potensiasi sinaptik yang bertahan lama ini melibatkan proses sintesis pada protein mRNA BDNF dalam neuron hipokampus khususnya neuron postsinaptik, sehingga terbentuk LTM.

Perubahan fisik hipokampus yang dipengaruhi oleh aktivitas fisik dapat ditunjukkan dari hasil penelitian pada lansia berusia 65 tahun dengan metode kohort prospektif, yaitu: pada orang yang rutin melakukan aktivitas fisik lebih lambat mengalami penurunan kemampuan LTM. Penelitian ini dilakukan selama 6 tahun terhadap 1,750 orang dengan menggunakan teknik *self-reported* data dan menemukan peningkatan LTM sebesar 40%.<sup>37</sup> Penelitian lainnya yang dilakukan pada lansia yang sudah meninggal dengan memiliki riwayat melakukan aktivitas fisik teratur selama hidupnya, ditemukan BDNF hipokampus yang tereksresi lebih signifikan pada gambaran PCR bila

dibandingkan dengan kelompok sedenter. Penelitian lain terhadap 21 orang dewasa yang diberi perlakuan latihan fisik, ditemukan peningkatan kemampuan *learning* dan *memory* yang dimediasi oleh BDNF. Peningkatan kemampuan *learning* dan *memory* tersebut terlihat dari meningkatnya skor pada tes memori dan kecepatan reaksi ( $750.5 \pm 19.0$  ms vs  $664.3 \pm 14.9$  ms).<sup>24</sup> Pada penelitian yang diuraikan diatas tidak menjelaskan hubungan fungsional dan korelasi antara respon fisiologis berupa LTM dengan perubahan molekuler berupa mRNA BDNF dan protein BDNF.

Terbentuknya LTM erat kaitannya dengan LTP yang timbul dari interaksi antara respon fisiologis dan perubahan molekuler yang berada di tingkat sirkuit lokal pada hipokampus. LTP adalah peningkatan kekuatan sinaptik yang persisten sebagai dampak stimulasi dengan frekuensi tertentu dari molekul kimiawi di sinaps. Respon terhadap LTP dan LTM tergantung pada cepat lambatnya perubahan molekuler berupa sintesis protein baru berupa neurotransmitter. *Late-Long Term Potentiation* (L-LTP) merupakan proses potensiasi sinaptik yang bertahan lama. Proses potensiasi sinaptik yang bertahan lama ini melibatkan proses sintesis protein mRNA BDNF dalam neuron hipokampus khususnya neuron postsinaptik yang berhubungan dengan aktivitas fisik, sehingga terbentuk LTM.

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat menjelaskan hubungan fungsional yang terbaik terdapat pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang dibandingkan dengan aktivitas fisik intensitas ringan dan aktivitas fisik intensitas berat.

#### Simpulan

Terdapat peningkatan respon fisiologis LTM berdasarkan waktu tempuh uji renang dan perubahan molekuler berupa peningkatan ekspresi mRNA dan protein BDNF di hipokampus, peningkatan kadar BDNF plasma serta hubungan fungsional yang terbaik pada kelompok aktivitas fisik intensitas sedang dibandingkan dengan aktivitas fisik intensitas ringan maupun aktivitas fisik intensitas berat.

#### Daftar Pustaka

- Dahlan MS., *Statistik untuk Kedokteran Dan Kesehatan*. ed 5. 2011.  
 Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan Departemen Kesehatan R.I  
*Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan*. 2006. Jakarta.  
 Wilmore J., Knuttgen, H. *Aerobic Exercise and Endurance Improving Fitness for Health Benefits*. The Physician and Sportsmedicine. 2003. 31(5). 45.  
 Wislett U., Ellingsen O., Kemi O. *High Intensity Interval Training to Maximize Cardiac Benefit of Exercise Training?*. Exercise and Sports Sciences Reviews. 2009. 37(3): 139–146.  
 McAuley E., Kramer AF., and Colcombe SJ. *Cardiovascular fitness and neurocognitive function in older Adults: a brief review*. BRAIN, BEHAVIOR, and IMMUNITY. 2004. 18: 214–220.  
 Mooren FC, Volker K. (Editors). *Molecular and Cellular Exercise Physiology*. Champaign, IL: Human Kinetics, 2005.  
 Berchtold N.C. *Estrogen and exercise interact to regulate brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the hippocampus*. Eur. J. Neurosci. 2001. 14:1992–2002.  
 Kraemer WJ., Fleck SJ., Deschenes MR. *Exercise Physiology. Integrating Theory and Application*. 2012. P: 353-384.

- Plowman SA., Smith DL. *Exercise Physiology*. For Health, Fitness and Performance. 3rd ed. 2011. P:1-20.
- Binder DK., Scharfman HE. *Brain-derived neurotrophic factor*. Growth Factors. 2004. 22 (3): 123–131.
- Bramham CR., Messaoudi E. *BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis*. Prog Neurobiol. 2005. 76:99–125.
- Bekinschtein P., Cammarota M., Katze C., Slipczuk L., Rossato JI., Goldin A., et al. *BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage*. PNAS. 2008. vol. 105. no. 7, 2711–2716.
- Vaynman S., Ying Z., Gomez-Pinilla F. *Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition*. European Journal of Neuroscience. 2004. Vol. 20, pp. 2580–2590.
- Kalat J.W. *Biological Psychology: The Biology of Learning and Memory*. 8th ed. Chapter 13. Belmont, CA: Wadsworth/Thomson Learning inc; 2004. P 387-415.
- Bailey C.H., Kandel E.R., Si K. *The persistence of long-term memory: A molecular approach to self-sustaining changes in learning-induced synaptic growth*. Neuron 2004. 44:49–57.
- Warburton EC., Glover CPl., Massey PV., Wan H., Johnson B., Bienemann A., et al. *cAMP Responsive Element-Binding Protein Phosphorylation Is Necessary for Perirhinal Long-term Potentiation and Recognition Memory*. The Journal of Neuroscience. 2005. 25(27):6296–6303.
- Castellano V., Patel DI., Yarrow JF., McCoy SC., Blazina A., White LJ. *Acute and chronic exercise influence serum brain-derived neurotrophic factor in multiple sclerosis*. The FASEB Journal. 2007;21:957.4
- Vaynman S., Ying Z., Go´mez-Pinilla F. *Exercise Induces BDNF and Synapsin I to Specific Hippocampal Subfields*. Journal of Neuroscience Research. 2004. 76:356–362.
- Powrozek TA., Sari Y., Singh RP., Zhou FC. *Neurotransmitters and substances of abuse: effects on adult neurogenesis*. Current Neurovascular Research. 2004. 1:251-260.
- Conti AC., Cryan JF., Dalvi A., Lucki I., Blendy JA. *cAMP response element-binding protein is essential for the up-regulation of brain-derived neurotrophic factor transcription, but not the behavioral or endocrine responses to antidepressant drugs*. J Neurosci. 2002. 22:3262–3268.
- Boron WF. *Medical Physiology: A Cellular And Molecular Approach*. 2008. Elsevier/Saunders. ISBN 1-4160-2328-3.
- Whitlock J., Heynen A., Shuler M., Bear M. *Learning induces long-term potentiation in the hippocampus*. Science. 2006. 313 (5790):1093–7.
- Webster MJ., Herman MM., Kleinman JE., & Shannon Weickert C. *BDNF and trkB mRNA expression in the hippocampus and temporal cortex during the human lifespan*. Gene Expression Patterns. 2006. 6, 941–951.
- Pontifex MB., Hillman CH., Fernhall B., Thompson KM., Valentini TA. *Behavioral Correlates of Working Memory Following Acute Aerobic and Resistance Exercise*. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2008. Volume 40. pp S89-S90.
- Komulainen P., et al. *BDNF is a novel marker of cognitive function in ageing women: The DR's EXTRA Study*. Neurobiology of Learning and Memory. 2008. 90 (4): 596-603.
- Greenberg ME., Xu B., Lu B., Hempstead BL. *New Insights in the Biology of BDNF Synthesis and Release: Implications in CNS Function*. The Journal of Neuroscience. 2009. 29(41):12764–12767.
- Quantikine. *Human BDNF Immunoassay. For the quantitative determination of human brain-derived neurotrophic factor (BDNF) concentrations in cell culture supernates, serum, and plasma*. R&D Systems, Inc. 2009
- Andersen P., Mørns R., Amaral D., Bliss T., O'Keefe J. *The Hippocampus Book*. Oxford University Press, Inc. 2007.
- Kelleher R., Govindarajan A., Tonegawa S. *Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity*. Neuron. 2004. 44 (1): 59–73.
- Routtenberg A, Rekart JL. *Post-translational protein modification as the substrate for long-term memory*. Trends Neurosci. 2005. 28:12–19.
- Leung LS, Shen B, Rajakumar N, Ma J. *Cholinergic activity enhances hippocampal long-term potentiation in CA1 during walking in rats*. J Neurosci. 2003. 23:9297-9304.
- Kojima T, Matsumoto M, Togashi H, Tachibana K, Kemmotsu O, Yoshioka M. *Fluvoxamine suppresses the long-term potentiation in the hippocampal CA1 field of anesthetized rats: an effect mediated via 5-HT1A receptors*. Brain Res. 2003. 959: 165–168.
- Terje Lømo. *The discovery of long-term potentiation*. Philosophy Trans R Soc London B. Biol Sci. 2003. 358 (1432): 617–20.
- McNaughton BL. *Long-term potentiation, cooperativity and Hebb's cell assemblies: a personal history*. Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences. 2003. 358 (1432): 629–34.
- Cao X., Cui Z., Feng R., et al. *Maintenance of superior learning and memory function in NR2B transgenic mice during ageing*. Eur J Neurosci. 2007. 25:1815-22.
- Winters BD., Bussey TJ. *Glutamate receptors in perirhinal cortex mediate encoding, retrieval, and consolidation of object recognition memory*. J Neurosci. 2005. 25:4243–4251.
- Andel R., Crowe M., Pedersen NL., Fratiglioni L., Johansson B., Gatz M. *Physical Exercise at Midlife and Risk of Dementia Three Decades Later: A Population-Based Study of Swedish Twins*. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences. 2008. 63:62-66