

Effects of Moderate Treadmill Exercise and Fluoxetine on Spatial Memory and Serum BDNF Levels in an Animal Model of Post-traumatic Stress Disorder

Sakineh Shafia¹,
Abbas Ali Vafaei²,
Ali Rashidy-Pour²

¹ Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Learning and Memory Research Center, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received August 13, 2019 ; Accepted October 1, 2019)

Abstract

Background and purpose: Post-traumatic stress disorder (PTSD) develops after major trauma that is accompanied by certain signs, including pervasive fear memories, anxiety, abnormality in spatial and cognition memory, and decrease in hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) are the first-line treatment for PTSD. This study aimed at investigating the effects of moderate treadmill exercise and fluoxetine on spatial memory and serum BDNF levels in rat model of PTSD.

Materials and methods: In this experimental study, single prolonged stress (SPS) animal model of PTSD was used. Male and female rats were divided into SPS and control groups (n=10 per group). After that, they were subjected to moderate treadmill running (5 days per week/four weeks) and fluoxetine (10 mg/kg/day). Then, behavioral assessment and BDNF measurement were done.

Results: SPS male rats showed reduced spatial memory and hippocampal BDNF. Female rats showed more resistance to SPS than male rats. This may be due to the effects of gonadal hormones. The intervention alleviated the SPS-induced alterations in hippocampal-dependent spatial memory and BDNF serum levels in both male and female rats ($P<0.05$).

Conclusion: Combined exercise and fluoxetine administration are more effective in alleviating behavioral and molecular deficits in PTSD patients.

Keywords: post-traumatic stress disorder, single prolonged stress, moderate exercise, fluoxetine, hippocampal dependent memory, brain-derived neurotrophic factor

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (179): 1-17 (Persian).

* **Corresponding Author:** Ali Rashidy-Pour- School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
(E-mail: arashidy_pour44@yahoo.com)

اثرات ورزش تردمیل با شدت متوسط و فلوکستین بر حافظه فضایی و سطح BDNF در مدل حیوانی PTSD

سکینه شفیعا¹
عباسعلی وفایی²
علی رشیدی پور²

چکیده

سابقه و هدف: اختلال استرس پس از سانحه (PTSD) اختلالی روانی است که به دنبال تجربه حوادث تروماتیک ایجاد شده و همراه با علائمی مانند ناتوانی در فراموشی خاطرات آزاردهنده، اضطراب، آشفتگی در حافظه فضایی و کاهش فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) می باشد. جهت درمان از مهارکننده های اختصاصی بازجذب سروتونین (SSRIs) استفاده می شود. با توجه به شیوع بیماری و عدم پاسخگویی کامل درصدی از بیماران به این درمان، بکار بردن روش های درمانی جدید ضروری به نظر می رسد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات ورزش تردمیل با شدت متوسط بر حافظه فضایی و سطح BDNF در موش های سفید در یک مدل آزمایشگاهی PTSD انجام گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی از استرس طولانی مدت تک واحدی (SPS) مدل حیوانی برای ایجاد PTSD استفاده شد و سپس ورزش به مدت 4 هفته و هر هفته 5 روز تردمیل و فلوکستین به میزان 10 mg/kg به کار گرفته شد رت های نر و ماده هر یک به دو گروه SPS و سالم تقسیم شدند (هر گروه 10 حیوان) و هر دو گروه در معرض مداخله ورزشی و دارویی و مداخله ورزش به همراه دارو قرار گرفتند. سپس تست رفتاری و اندازه گیری BDNF در نمونه ها انجام شد.

یافته ها: در رت های نر، SPS سبب اختلال حافظه فضایی و کاهش BDNF هیپوکامپ شده و نوع ماده مقاومت بیش تری نسبت به SPS نشان داد که احتمالاً مرتبط با فعالیت هورمون های جنسی می باشد. مداخله، باعث افزایش حافظه فضایی و BDNF هیپوکامپ در هر دو جنس شد ($P < 0/05$).

استنتاج: مداخله توأم، ورزش متوسط و فلوکستین، روش درمانی بهتری نسبت به فلوکستین به تنهایی برای اصلاح اختلالات شناختی و مولکولی بیماران PTSD است.

واژه های کلیدی: سندروم استرس پس از سانحه، استرس طولانی مدت تک واحدی، ورزش متوسط، فلوکستین، حافظه فضایی وابسته به هیپوکامپ، فاکتور نوروتروفیک مغزی

مقدمه

اختلال استرس پس از سانحه (PTSD: Post traumatic stress disorder)، یک آشفتگی روانی است که پس از مواجهه فرد با حوادث تروماتیک، مانند تجاوز، جنگ، تصادف رانندگی و بلایای طبیعی به وجود می آید. علائم بیماری شامل آشفتگی افکار و احساسات، رؤیاهای مرتبط با حادثه تروماتیک، تلاش

E-mail: arashidy_pour44@yahoo.com

مؤلف مسئول: علی رشیدی پور - سمنان: دانشگاه علوم پزشکی سمنان، مرکز تحقیقات یادگیری و حافظه

1. استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. استاد، مرکز تحقیقات یادگیری و حافظه، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

تاریخ دریافت: 1398/5/12 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1398/5/13 تاریخ تصویب: 1398/7/9

برای دوری کردن از نشانه‌های مرتبط با تروما و افزایش برانگیختگی می‌شوند. تداوم این علائم بیش از یک ماه پس از حادثه احتمال بروز PTSD را افزایش می‌دهد (1). سطح کورتیزول غیرطبیعی، هیپوکامپ کوچک‌تر و همچنین آسیب حافظه فضایی و حافظه شناختی به دلیل آسیب عملکرد هیپوکامپ و کورتکس پره فرونتال، در این بیماران مشاهده می‌شود (2). میزان شیوع PTSD در زنان 10-12 درصد و در مردان 5-6 درصد می‌باشد. عارضه PTSD در همه افرادی که وقایع ترومایی را تجربه می‌کنند، دیده نمی‌شود (3). احتمالاً افرادی با زمینه ژنتیکی آسیب‌پذیر ریسک بیش‌تری برای ابتلا به PTSD را پس از تجربه یک حادثه تروماتیک دارند (4). مطالعات نشان می‌دهد که چندین ژن از قبیل ژن ترانسپورتر سروتونین، ژن رسپتور دوپامین، ژن ترانسپورتر دوپامین، ژن رسپتور گلوکوکورتیکوئید، ژن رسپتور گابای، ژن آپولیپوپروتئین، ژن رسپتور فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF: Brain derived neurotrophic factor) و ژن نوروپپتید Y در ایجاد PTSD دخیل هستند (5). علاوه بر این پلی مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) نیز در ایجاد PTSD نقش دارند (2).

درمان‌های رایج برای PTSD، درمان‌های دارویی و غیر دارویی می‌باشند (1). مهارکننده‌های اختصاصی بازجذب سروتونین (SSRIs) به‌عنوان خط اول درمان دارویی برای مبتلایان به PTSD شناخته شده‌اند، زیرا اثربخشی آن‌ها نسبت به سایر داروها بیش‌تر است. برخی از درمان‌های غیر دارویی PTSD عبارت هستند از: غیر حساس شدن سیستماتیک (Systemic desensitization)، مواجهه درمانی (Exposure Therapy)، شناخت درمانی رفتاری (CBT: Cognitive behavioral Therapy)، تمرین روان درمانی استرس (Psychotherapy stress inoculation training) (6,1).

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که هیچ کدام از درمان‌های دارویی و غیر دارویی کاملاً مؤثر نبوده و درصدی از بیماران، پس از درمان مجدداً علائم بیماری را

نشان می‌دهند (7). فلوکستین یکی از انواع مهارکننده‌های انتخابی برداشت سروتونین است که برای مبتلایان به PTSD پیشنهاد می‌شود. آزمایشات نشان داده است که فلوکستین از طریق BDNF منجر به افزایش شکل‌پذیری سیناپسی در هیپوکامپ موش‌های وحشی می‌شود (8). بعلاوه، فلوکستین منجر به کاهش علائم شبه PTSD و افزایش نورون‌زایی در هیپوکامپ می‌شود (9,10). حجم و عملکرد ناحیه هیپوکامپ در PTSD به علت اثرات مزمن گلوکوکورتیکوئیدها کاهش می‌یابد (6). کاهش حجم هیپوکامپ، یک عامل خطر مهم خانوادگی در ایجاد PTSD می‌باشد (8). در این افراد فعالیت هیپوکامپ و کورتکس پره فرونتال کم شده که این احتمالاً، سبب کاهش کنترل بر فعالیت آمیگدال می‌شود (9).

ورزش یک عامل درمانی برای اصلاح بسیاری از آسیب‌های سیستم عصبی می‌باشد و اثرات مفیدی بر عملکرد و شکل‌پذیری سیستم عصبی داشته و تولید نورون‌های جدید را افزایش می‌دهد (10). مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده‌اند که ورزش سبب افزایش یادگیری و حافظه می‌شود و احتمالاً خطر ابتلا به بیماری‌های نورودژنراتیو را کاهش می‌دهد. اثرات مثبت ورزش بر فعالیت‌های شناختی از طریق افزایش نورون‌زایی در هیپوکامپ، افزایش شکل‌پذیری سیناپس‌ها و نیز افزایش رهایش فاکتورهای رشد اعمال می‌شود (11). دامنه وسیعی از تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک به دنبال ورزش رخ می‌دهد (12). مکانیسم‌های مولکولی و سلولی درگیر در اثرات ورزش بر مغز تا اندازه‌ای شناخته شده‌اند. مطالعات نشان داده است که فاکتورهای نوروتروفیک نقش مهمی در فعالیت‌های مغزی از قبیل یادگیری و حافظه بازی می‌کنند (13).

فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) و فاکتور رشد شبه انسولین 1 (IGF-1) نقش مهمی در وساطت اثر ورزش بر مغز بازی می‌کنند، در حین ورزش مقدار این دو فاکتور رشد هم در محیط بدن و هم در مغز افزایش پیدا می‌کند (14). بلوک گیرنده‌های

از مدتی مجدداً علائم عود بیماری در آن‌ها ظاهر می‌شود، بنابراین پیدا کردن راه‌های درمانی جدید که علاوه بر سودمندی بیش‌تر، کم‌ترین اثرات جانبی را داشته و احتمال بازگشت بیماری را کاهش بدهند، از اهمیت بسیار برخوردار است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و طراحی تحقیق

رت‌های نر و ماده (ماده‌ها بدون سابقه‌ی بارداری)، نژاد ویستار به وزن 250-200 گرم در مرکز تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران - ساری نگهداری شده و در محیط با درجه حرارت 24 ± 2 درجه سانتیگراد و سیکل شبانه‌روزی منظم (12 ساعت تاریکی و 12 ساعت روشنایی) نگهداری شدند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. در این مطالعه تجربی از استرس طولانی‌مدت تک‌واحدی (SPS) مدل حیوانی برای ایجاد PTSD استفاده شد. رت‌ها به دو گروه SPS و سالم تقسیم شدند.

رت‌های SPS به 4 گروه نر و 4 گروه ماده و همچنین رت‌های سالم به 4 گروه SPS و 4 گروه سالم تقسیم شدند. در مجموع 16 گروه حیوانی و در هر گروه 10 حیوان در پروسه آزمایش شرکت داشت (کل تعداد حیوانات 160 رت).

4 گروه رت‌های SPS و 4 گروه رت‌های سالم در هر دو جنس به شکل زیر تحت تاثیر مداخله قرار گرفتند:

- 1) گروه غیرورزشی + گروه دریافت‌کننده حامل (Sedentary- Vehicle) SED-VEH
- 2) گروه دریافت‌کننده دارو (به مدت 4 هفته) (Fluoxetine) FLX
- 3) گروه ورزشی (به مدت 4 هفته، هفته‌ای 5 روز) (Exercise) EXE
- 4) گروه ورزشی + گروه دریافت‌کننده دارو (به مدت 4 هفته) EXE + FLX (Fluoxetine+ Exercise)

BDNF و IGF-1 می‌تواند به میزان زیادی اثرات ورزش بر عملکرد مغز را مهار کند (15). BDNF یک عضو از خانواده نوروتروفین‌ها است. نوروتروفین‌ها گروهی از فاکتورهای رشد عصبی هستند که نقش مهمی در فیزیولوژی، پیشرفت و پاتولوژی بیماری‌های روانی دارند. BDNF در تعدادی از بافت‌ها و سلول‌ها مانند مغز و خون بیان می‌شود، نقش آن در تعدادی از اختلالات روانی، مانند دپرسیون، اضطراب، اختلال در خوردن و بیماری استرس پس از سانحه، مورد بررسی قرار گرفته است (16). پروسه‌های کنترل‌شده توسط BDNF عموماً پاسخ استرس را کنترل می‌کنند (17). آسیب حافظه و شناخت همراه با کاهش میزان BDNF در بیماران PTSD گزارش شده است (18). احتمال ابتلا به آشفتگی‌های روانی مرتبط با اضطراب و استرس در زنان دو برابر مردان است و این مسئله ناشی از اختلافاتی در مدارهای نورونی مؤثر در واکنش‌های هیجانی می‌باشد. مطالعات اپیدمیولوژیکی پیشنهاد کرده‌اند که زنان ممکن است ریسک بالاتری برای ابتلا به آشفتگی‌های اضطرابی داشته و نشانه‌های بیماری در آن‌ها در طی فازهای مختلف زندگی تولیدمثلی مانند بلوغ، قاعدگی، پس از زایمان و در یائسگی تشدید می‌شود (19).

هورمون‌های گنادی، بر پروسه‌های یادگیری و حافظه نیز تأثیر دارند و استروژن یک تعدیل‌کننده نورونی پر قدرت برای مکانیسم‌های حافظه است (20). هورمون‌های تخمدانی که کنترل‌کننده‌های اساسی سیکل قاعدگی هستند، بر مستعد بودن به PTSD و نشانه‌شناسی این بیماری در زنان تأثیر می‌گذارند (21). بر این اساس مقایسه تأثیر ورزش و فلوکستین بر حافظه فضایی و BDNF در رت‌های نر و ماده در این مطالعه گنجانده شده است. با توجه به شیوع بیماری در افرادی که در معرض تروماهای اجتماعی یا حوادث طبیعی قرار می‌گیرند و با در نظر گرفتن این مسئله که ابتلا به PTSD بخشی از نیروهای فعال جامعه را به انزوا می‌کشد و همه بیماران نیز پاسخگویی کامل به درمان را نشان نمی‌دهند و پس

ایجاد PTSD به روش SPS

مدل استرس طولانی مدت تک واحدی (SPS: Single prolonged stress) با القاء 3 نوع استرس مختلف ایجاد می شود: محدود نمودن حیوان به مدت 2 ساعت در یک محدود کننده (استرس سایکولوژیک)، شنای اجباری به مدت 20 دقیقه (استرس فیزیکی) و بیهوشی با اتر (استرس اندوکرینولوژیک). به این صورت که حیوانات به طور جداگانه به مدت 2 ساعت داخل یک restrainer پلی اتیلن قرار می گرفتند. سازه دستگاه درست به اندازه حیوان بود، به همین دلیل امکان هرگونه حرکت حیوان به طور کامل گرفته می شد. بعد از بی حرکتی، نمونه ها به طور انفرادی نگه داشته شدند و سپس در یک سیلندر آکرلیک شفاف (قطر 240 mm و ارتفاع 500 mm) که دو سوم آن پر آب شده بود، به مدت 20 دقیقه شنای قدرتی انجام دادند. پس از 15 دقیقه حیوانات به وسیله دی اتیل اتر هوشیاری شان را از دست داده و سپس در شرایطی بدون آشفستگی و شلوغی به مدت 1 روز در قفس هایشان ماندند (22، 19).

ورزش اجباری

14 روز پس از SPS، رت های گروه Exercise روی یک تردمیل برقی (ساخت شرکت برج صنعت، تهران، ایران)، با شیب صفر درجه دویدند. حیوانات گروه Sedentary به اتاق آزمایش منتقل شده، دست ورزی (handling) شده و به مدت 5 دقیقه روی تردمیل خاموش باقی ماندند. حیوانات گروه ورزشی طبق پروتکل تعیین شده که بر اساس مطالعات قبلی بود، ورزش را انجام دادند. در طی ورزش هیچ شوکی به حیوانات داده نشد و چنانچه حیوانی در دستگاه آسیب می دید، بلافاصله خارج و تیمار می شد. پروتکل ورزشی 5 روز در هفته در طی سیکل نوری بین ساعات 9 صبح تا 2 بعد از ظهر به مدت 4 هفته با سرعت 10 متر بر دقیقه و هر روز 30 دقیقه انجام شد (23). در هر جلسه ورزشی،

بعد از 15 دقیقه ورزش یک استراحت 5 دقیقه ای در نظر گرفته شد، اما قبل از شروع اولین جلسه پروسه آشنا کردن حیوانات با تردمیل انجام شد. حیواناتی که مقاومت کرده ورزش انجام نمی دادند، از پروسه آزمایش حذف شدند تا گروه حیوانات مورد آزمایش کاملاً یکسان باشد.

عادت دادن حیوانات به دستگاه

سازش دادن حیوانات به این صورت بود که به مدت 3 روز، هر روز 15 دقیقه (5 دقیقه اول با سرعت 5 متر بر دقیقه، 5 دقیقه دوم با سرعت 10 متر بر دقیقه و 5 دقیقه سوم با سرعت 15 متر بر دقیقه) حیوانات روی دستگاه قرار گرفته و ورزش کردند.

مدخله دارویی

از داروی Fluoxetine hydrochloride (تهیه شده از لابراتوار دکتر عبیدی، تهران، ایران) استفاده شد. 14 روز پس از SPS، کلیه حیوانات گروه های SPS و سالم به گروه های دریافت کننده دارو Fluoxetine (FLX) و عدم دریافت دارو Vehicle (VEH) تقسیم شدند. دوز دارو برای کلیه گروه های دریافت کننده دارو 10 mg/kg/day به صورت حل شده در آب آشامیدنی بود. حیوانات گروه کنترل فقط آب آشامیدنی دریافت کردند. دوز انتخابی دارو بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شده بود (24).

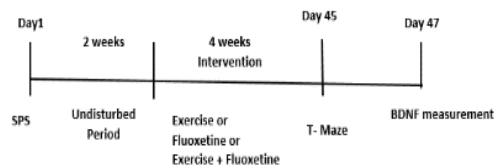
ارزیابی حافظه فضایی وابسته به هیپوکامپ (Delayed Alteration Task, DAT)

هدف این تست بررسی حافظه فضایی وابسته به هیپوکامپ می باشد. T-maze یک سیستم بسته به شکل T افقی از جنس پلکسی گلاس است. بازوهای هدف و جعبه ی شروع از ناحیه مرکزی به وسیله یک مسیر افقی و درب هایی جدا می شوند (تصویر شماره 1). روشنایی داخل سیستم تقریباً 50 Lux می باشد. برای جلوگیری از تغییرات سیرکادین کورتیکوسترون، این تست بین

تست (Test): 24 ساعت بعد، ابتدا تیغه میانی برداشته شد (در این صورت حیوان به راحتی به هر دو بازو دسترسی داشت). سپس درهای گیوتینی در دو انتهای بازوهای T باز شدند. حیوان در اتاقک شروع گذاشته شده، درب گیوتینی اتاقک شروع بسته شد. پس از 30 ثانیه در اتاقک شروع، باز و به حیوان اجازه داده شد وارد هر بازویی که تمایل دارد بشود. با وارد شدن به بازوی هدف درب گیوتینی آن بسته شده، بعد از این که 30 ثانیه در آن ماند، به آرامی بیرون آورده شده و به قفس برگردانده شد. بعد از 30 ثانیه این پروسه تکرار گردید. از بین دو انتخابی که در روز تست، حیوانات انجام داده‌اند، می‌توان آسیب هیپوکامپ را برآورد کرد. گروه حیوانات با آسیب هیپوکامپ نمره زیر 50 را کسب می‌کنند.

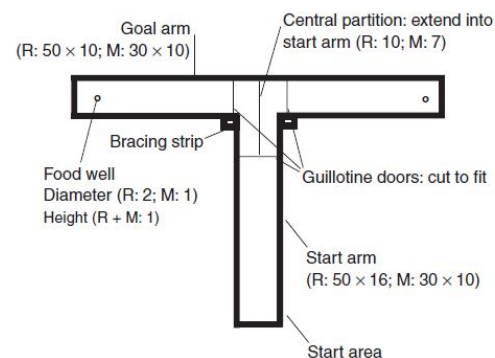
اندازه‌گیری میزان پروتئین BDNF

با قطع گردن حیوان، خون گردنی جمع‌آوری شد. سپس برای جداسازی سرم، نمونه خون با دور 4000 به مدت 20 دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم به دست آمده تا زمان اندازه‌گیری BDNF در 70- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. از طرفی بافت هیپوکامپ، بلافاصله پس از جداسازی تا زمان اندازه‌گیری در دمای 70- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان پروتئین BDNF سرم و هیپوکامپ با روش E-Max ELISA مطابق دستورالعمل موجود در کیت (Boster Biological Technology Co. Boster (CA, USA) اندازه‌گیری شد.



تصویر شماره 2: زمان بندی آزمایش

ساعات 8-12 صبح انجام شد. حرکت حیوان از پایه T شروع شده و به او اجازه داده شد که یکی از بازوهای هدف را که در انتهای دسته T است انتخاب کند. اگر دو بار پشت سرهم حیوان در دستگاه قرار داده می‌شد و اگر برای بار دوم حیوان تمایل داشت بازویی را انتخاب کند که دفعه قبل ندیده است، این انعکاسی از به خاطر سپردن انتخاب اول وی می‌باشد. هر نوبت باید در کم‌تر از 2 دقیقه کامل شود. این تست در دو روز انجام شد. روز اول، آموزش حیوان (Training) و روز دوم گرفتن تست (Test) بود (25).



تصویر شماره 1: طرح T-maze: اندازه‌ها بر حسب سانتی‌متر می‌باشند. R=Rat, M=Mouse

آموزش (Training): در شروع تست، تیغه میانی در جای خود قرار داشته و دو درب گیوتینی در انتهای بازوهای T باید بالا باشند. ابتدا حیوان در اتاقک شروع قرار داده می‌شد و این در حالی بود که درب گیوتینی این قسمت بسته بود. پس از 30 ثانیه درب گیوتینی اتاقک شروع، بالا رفته و به حیوان اجازه داده شد به سمت هر یک از بازوها که تمایل دارد حرکت کند، با وارد شدن حیوان به انتهای هر یک از بازوها درب گیوتینی بازو به آرامی و بدون صدا بسته شده و 30 ثانیه حیوان در این قسمت ماند. سپس حیوان به قفس برگردانده می‌شد و 30 ثانیه بعد این پروسه دقیقاً به همین شکل مجدداً انجام می‌شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار 22 spss استفاده شد. توصیف اطلاعات به وسیله شاخص‌های میانگین $\pm$ انحراف معیار و نمودارهای مناسب انجام شد. آزمون کولموگروف اسمیرنوف جهت بررسی نحوه توزیع داده‌ها استفاده شد. داده‌ها توسط آزمون‌های مناسب پارامتریک، از جمله آنالیز واریانس یک طرفه و آنالیز واریانس دوطرفه و سه طرفه بررسی شدند. همچنین داده‌های گروه‌ها با آزمون‌های تعقیبی (Post Hoc) مناسب تحت بررسی قرار گرفتند. سطح معنی داری در کلیه آزمایش‌ها ($P < 0/05$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

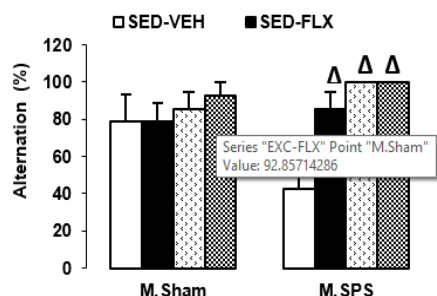
نتایج تست T -Maze در رت‌های نر، ماده و مقایسه

بین دو جنس

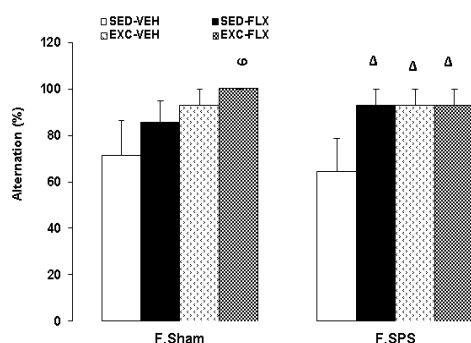
در گروه رت‌های نر آنالیز واریانس دوطرفه بر روی داده‌های مربوط به درصد رفتار تناوبی، اثر معنی دار درمان را نشان داد ($F_{3,48}=7/333$, $P=0/0001$). اثر SPS ($F_{1,48}=0/472$, $P=0/495$) و همچنین تعامل اثر دو فاکتور SPS و درمان معنی دار نبود ($P=0/120$), مقایسه بین گروهی نشان داد حافظه فضایی در گروه‌های سالم M. SED-VEH ($P=0/014$) و M.SPS/EXC-VEH ($P=0/004$) و M.SPS/SED-FLX ($P=0/0001$) و M.SPS/EXC-FLX ($P=0/0001$) از گروه M.SPS/SED-VEH به طور معنی داری بیش تر است (تصویر شماره 3).

مبتلا به PTSD و کنترل تحت تاثیر ورزش اجباری با شدت متوسط و فلوکستین و درمان توام در T-maze در گروه رت‌های ماده، آنالیز واریانس دوطرفه بر روی داده‌های مربوط به درصد رفتار تناوبی، اثر معنی دار درمان را نشان داد ($F_{3,48}=3/986$, $P=0/013$). اثر SPS ($F_{1,48}=0/207$, $P=0/651$) و همچنین تعامل اثر دو فاکتور SPS و درمان معنی دار نبود ($F_{3,48}=0/390$, $P=0/760$). مقایسه بین گروهی نشان داد حافظه فضایی در

گروه سالم EXC-FLX به طور معنی داری از گروه سالم SED-VEH بیش تر است ($p=0/039$). همچنین، حافظه فضایی در گروه‌های F.SPS/SED-FLX و F.SPS/EXC-VEH (همه $P=0/039$) افزایش معنی داری نسبت به گروه F.SPS/SED-VEH دارد (تصویر شماره 4).



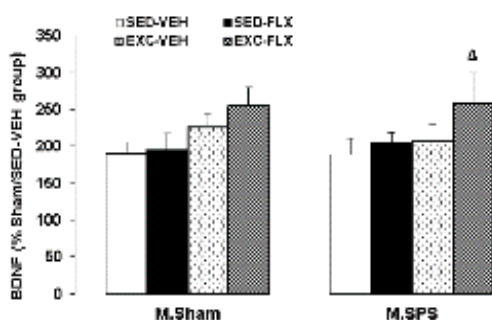
تصویر شماره 3: اثر ورزش اجباری با شدت متوسط و داروی فلوکستین بر حافظه فضایی در رت‌های نر



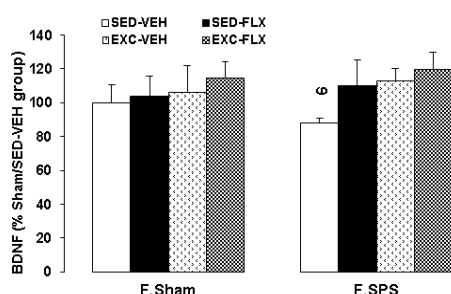
تصویر شماره 4: اثر ورزش اجباری با شدت متوسط و داروی فلوکستین بر حافظه فضایی وابسته به هیپوکامپ (رفتار تناوبی) در رت‌های ماده مبتلا به PTSD و کنترل

در مقایسه درصد رفتار تناوبی بین گروه رت‌های نر و ماده، در آنالیز واریانس سه طرفه جنس $\times$ درمان $\times$ SPS، اثر معنی دار مشاهده نشد SPS ($F_{1,96}=0/994$, $P=0/334$) و اثر معنی دار درمان ($F_{3,96}=14/667$, $P=0/0001$) و عدم اثر معنی دار برای جنس ($F_{1,96}=0/000$, $P=1/000$) و عدم وجود تعامل معنی دار بین جنس و SPS ($P=1/000$), و همچنین تعامل معنی دار برای درمان و

SPS ($F_{3,72}=8/167$, $P=0/0001$) و عدم وجود تعامل معنی دار برای درمان و جنس ($F_{3,96}=0/000$, $P=1/000$) مشاهده شد. تعامل بین سه متغیر SPS و درمان و جنس نیز معنی دار نبود ($F_{3,96}=0/000$, $P=1/000$) مقایسه بین گروهی نشان داد که تفاوت معنی داری در درصد رفتار تناوبی بین رت های نر و ماده در گروه های مختلف وجود ندارد (تصویر شماره 5).



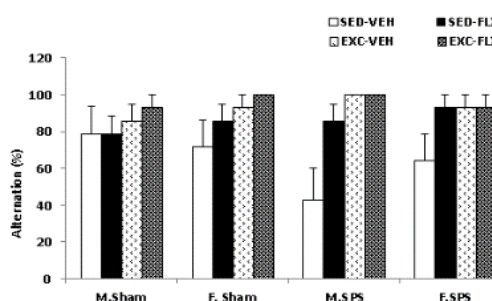
تصویر شماره 6: اثر ورزش اجباری با شدت متوسط و داروی فلوکستین بر میزان BDNF در سرم رت های نر مبتلا به PTSD و کنترل



تصویر شماره 7: اثر ورزش اجباری با شدت متوسط و داروی فلوکستین بر میزان BDNF در سرم رت های ماده مبتلا به PTSD و کنترل

در مقایسه میزان BDNF سرم بین گروه رت های نر و ماده، آنالیز واریانس سه طرفه جنس × درمان × SPS، نشان دهنده عدم وجود اثر معنی دار SPS ($P=0/952$), $P=0/004$ ($F_{1,64}=0/797$) و جنس ($P=0/375$) ($F_{1,64}=0/797$) و اثر معنی دار درمان ($P=0/007$) ($F_{3,64}=4/388$) بود. همچنین عدم تعامل معنی دار بین جنس و SPS ($P=0/845$) ($F_{3,64}=0/038$) و درمان و SPS ($P=0/890$) ($F_{3,64}=0/208$) و همچنین درمان و جنس ($P=0/709$) ($F_{3,64}=0/463$) نیز مشاهده شد. تعامل بین سه متغیر SPS و درمان و جنس نیز معنی دار

تصویر شماره 5: مقایسه اثر ورزش اجباری با شدت متوسط و داروی فلوکستین بر حافظه فضایی وابسته به هیپوکامپ (رفتار تناوبی) در موش های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل



نتایج اندازه گیری BDNF سرم در رت های نر، ماده و مقایسه بین دو جنس

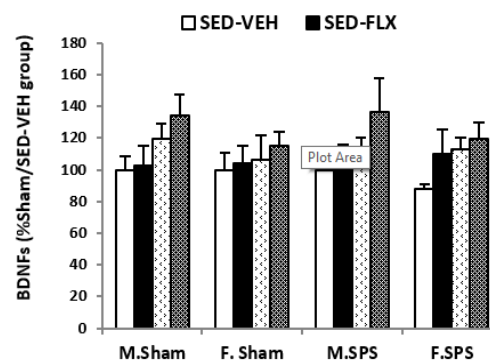
در گروه رت های نر، میزان BDNF سرم، توسط آزمون آنالیز واریانس دوطرفه مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی اثر معنی دار درمان ($F_{3,32}=3/035$, $P=0/043$) را نشان داد؛ اما اثر SPS ($F_{1,32}=0/008$, $P=0/929$) و همچنین تعامل اثر دو فاکتور SPS و درمان ($P=0/936$), $P=0/139$ ($F_{3,72}=0/139$) معنی دار نبود. آزمون های تعقیبی نیز نشان دادند که سطح BDNF سرم در گروه M.SPS/EXC-FLX افزایش معنی داری نسبت به گروه M.SPS/SED-VEH داشت (تصویر شماره 6).

در گروه رت های ماده، میزان BDNF سرم، توسط آزمون آنالیز واریانس دوطرفه مورد بررسی قرار گرفت. اثر هیچ یک از متغیرها و همچنین تعامل اثر آنها معنی دار نبود. SPS ($F_{3,32}=0/038$, $P=0/847$) و درمان ($P=0/207$)، $F_{1,32}=1/623$ تعامل اثر دو فاکتور SPS و درمان

نمود (F_{3,64} = 0/252, P = 0/860). باوجود این، مقایسه بین گروهی نشان داد که تفاوت معنی داری در میزان BDNF سرم بین رت های نر و ماده در گروه های مختلف وجود ندارد (تصویر شماره 8).

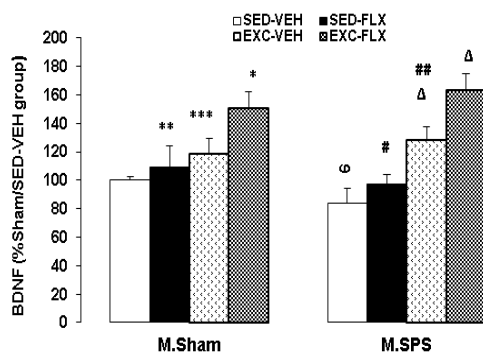
نتایج اندازه گیری BDNF هیپوکامپ در رت های نر، ماده و مقایسه بین دو جنس

در گروه رت های نر، میزان BDNF بافت هیپوکامپ، توسط آزمون آنالیز واریانس دوطرفه مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی (F_{3,32} = 20/769, P = 0/0001) اثر معنی دار درمان را نشان داد، اما اثر SPS P = 0/53، و اثر تعامل فاکتورهای درمان و SPS معنی دار نبود (F_{1,32} = 0/4, P = 0/138, F_{3,32} = 1/97). مقایسه بین گروهی نشان داد که BDNF هیپوکامپ در گروه M.SPS/SED-VEH به طور معنی داری کم تر از گروه سالم M/SED-VEH (P = 0/044) است. سطح BDNF هیپوکامپ در گروه M.SPS/EXC-FLX و گروه M.SPS/EXC-VEH افزایش معنی داری نسبت به M.SPS/SED-VEH (هر دو P = 0/0001) و میزان BDNF در گروه M.SPS/EXC-FLX به طور معنی داری بیش از گروه M.SPS/SED-FLX (P = 0/0001) و M.SPS/EXC-VEH (P = 0/013) بود.



تصویر شماره 8: مقایسه اثر ورزش اجباری با شدت متوسط و داروی فلوکستین بر میزان BDNF هیپوکامپ در رت های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل

افزایش میزان BDNF هیپوکامپ در گروه سالم M.EXC-FLX در مقایسه با گروه های سالم M/SED-FLX و M/SED-VEH (P = 0/0001) و M/EXC-VEH (P = 0/021) معنی دار بوده است (تصویر شماره 9).



تصویر شماره 9: اثر ورزش اجباری با شدت متوسط و داروی فلوکستین بر میزان BDNF در هیپوکامپ رت های نر مبتلا به PTSD و کنترل

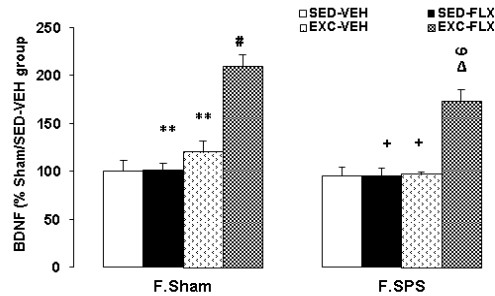
در گروه رت های ماده، میزان BDNF بافت هیپوکامپ، توسط آزمون آنالیز واریانس دوطرفه مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی اثر معنی دار درمان (F_{3,32} = 41/36, P = 0/0001) و اثر معنی دار SPS (F_{1,32} = 6/332, P = 0/017) را نشان داد. اثر تعامل فاکتورهای درمان و SPS معنی دار نبود (F_{3,32} = 1/203, P = 0/324). مقایسه بین گروهی نشان داد که BDNF هیپوکامپ در گروه سالم F/EXC-FLX نسبت به گروه های F/SED-VEH و F/SED-FLX و F/EXC-VEH افزایش معنی داری دارد در همه موارد، P = 0/0001. سطح BDNF هیپوکامپ در گروه F.SPS/EXC-FLX اختلاف معنی داری با گروه های F.SPS/EXC-VEH و F.SPS/SED-FLX داشت، در همه موارد (P = 0/0001) افزایش میزان BDNF هیپوکامپ در گروه سالم F EXC-FLX در مقایسه با گروه F.SPS/EXC-FLX (P = 0/013) معنی دار بود (تصویر شماره 10).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که در رت‌های نر، SPS باعث آسیب حافظه وابسته به هیپوکامپ و کاهش میزان BDNF در هیپوکامپ شد. اما در رت‌های ماده، SPS تاثیری بر میزان BDNF هیپوکامپ و حافظه وابسته به هیپوکامپ نداشت. همچنین در هیچ یک از گروه‌های نر و ماده، SPS تاثیری بر میزان BDNF سرم نداشت، اما ورزش ترد میل همراه با فلوکستین در جنس مذکر باعث افزایش BDNF سرم شد. ورزش ترد میل با شدت متوسط و داروی فلوکستین هر یک تأثیر مثبتی بر بهبود فاکتورهای BDNF و حافظه داشته و تأثیر ورزش و ورزش به همراه دارو به صورت توأم، بیش‌تر از تأثیر دارو به تنهایی بود. بر اساس یافته‌های به‌دست‌آمده از این مطالعه، یک مداخله غیر دارویی، خصوصاً ورزش با شدت متوسط، همراه با درمان فلوکستین نسبت به درمان‌های رایج می‌تواند راهی سودمندتر برای درمان PTSD باشد.

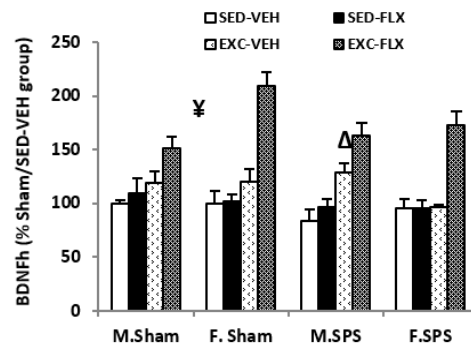
SPS به عنوان یک مدل حیوانی در سال 1997 به وسیله Liberzon (22) برای ایجاد بیماری PTSD به کار گرفته شد و قادر است بسیاری از علائم بیماری شامل افزایش پاسخ ترس و آسیب به حافظه (24) افزایش فیدبک منفی در محور HPA و افزایش واکنش‌های اضطرابی (26) و افزایش بیان رستپورهای گلوکوکورتیکوئیدی در هیپوکامپ (27) و افزایش بیان پروتئین‌های پروآپتوتیک در هیپوکامپ موش‌های نر SPS را سبب شود (28). مطالعات الکتروفیزیولوژی بر روی موش‌های SPS نشان داده است که تغییرات عملکردی در هیپوکامپ و آمیگدال به موازات تغییرات رفتاری می‌باشد (29) و نورون‌های هیپوکامپ نسبت به PTSD آسیب‌پذیر می‌باشند (7)، همچنین مشخص شده است که یادگیری و بهبود حافظه‌ی مرتبط با محیط یکی از اعمال مهم هیپوکامپ می‌باشد (30).

مطالعه ما نشان داد که SPS حافظه فضایی وابسته به هیپوکامپ را در رت‌های نر مختل می‌کند. از طرفی



تصویر شماره 10: اثر ورزش اجباری با شدت متوسط و داروی فلوکستین بر میزان BDNF در هیپوکامپ رت‌های ماده مبتلا به PTSD و کنترل

در مقایسه BDNF هیپوکامپ بین گروه رت‌های نر و ماده، آنالیز واریانس سه‌طرفه جنس × درمان × SPS، نشان‌دهنده عدم وجود اثر معنی‌دار SPS ($P=0/061$)، $F_{1,96}=3/635$ و جنس ($F_{1,96}=0/611$)، $P=0/261$ و اثر معنی‌دار درمان ($F_{3,96}=52/741$)، $P=0/0001$ بود. همچنین عدم اثر معنی‌دار برای تعامل بین جنس و SPS ($F_{3,96}=2/556$)، $P=0/115$ و همچنین درمان و SPS ($F_{3,96}=0/048$)، $P=0/986$ مشاهده شد؛ اما تعامل درمان و جنس معنی‌دار بود ($F_{3,96}=4/264$)، $P=0/008$). تعامل بین سه متغیر SPS و درمان و جنس نیز معنی‌دار نبود ($F_{3,96}=2/237$)، $P=0/092$ با وجود این مقایسه بین گروهی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در BDNF هیپوکامپ بین رت‌های نر و ماده در گروه‌های سالم EXC-FLX ($P=0/0001$) و SPS/EXC-VEH ($P=0/018$) وجود دارد (تصویر شماره 11).



تصویر شماره 11: مقایسه اثر ورزش اجباری با شدت متوسط و داروی فلوکستین بر میزان BDNF هیپوکامپ در رت‌های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل

مطالعات نشان داده‌اند که ورزش منجر به افزایش نوروزنرئز و ترمیم دندریتها در نورون های هیپوکامپ شده که این تغییرات باعث کاهش رفتارهای شبه اضطراب و افزایش عملکرد حافظه فضایی می‌شود (31). در مطالعه ما نیز ورزش، فلوکستین و تأثیر توأم ورزش و فلوکستین، باعث بهبود حافظه فضایی در این حیوانات شد. مداخله انجام‌شده تغییری در حافظه فضایی در حیوانات گروه سالم ایجاد نکرد.

هم راستا با مطالعه ما، مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی باعث بهبود مهارت‌های اکتساب و حفظ حافظه در تست‌های موریس واتر ماز (Morris Water Maze) و ماز آبی شعاعی و ترس اکتسابی و حافظه تشخیصی می‌شود و از آن جایی که این مهارت‌ها وابسته به هیپوکامپ هستند، می‌توان نتیجه گرفت که ورزش در بهبود توانایی‌های یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکامپ نقش داشته (7) و تخریب هیپوکامپ به دلیل استرس منجر به آسیب تمامی مهارت‌های مرتبط با هیپوکامپ مانند حافظه فضایی می‌شود، ورزش، تشکیل نورون‌های جدید در هیپوکامپ را از طریق فاکتورهای نوروتروفیک مانند BDNF و IGF-1 افزایش می‌دهد (32).

در رت‌های ماده، SPS کاهش معنی‌داری در حافظه فضایی ایجاد نکرد، در این گروه ورزش، دارو، ورزش و دارو به‌صورت توأم، سبب بهبود حافظه فضایی شدند. در گروه حیوانات سالم اثر توأم ورزش و دارو باعث بهبود حافظه فضایی شد. مطالعه‌ای هم راستا با مطالعه ما نیز نشان داده است که استرس می‌تواند به حافظه فضایی در رت‌های نر آسیب بزند اما در رت‌های ماده چنین تأثیری ندارد (33).

در تایید مطالعه ما، مطالعات دیگری نیز گزارش کرده‌اند که استرس حاد باعث آسیب به حافظه فضایی در موش‌های نر می‌شود (34-36). همچنین گزارش شده است که استرس باعث افزایش حافظه فضایی در رت‌های ماده می‌شود (34)، احتمال داده شده است که

اختلاف مشاهده شده در پاسخ‌گویی رت‌های نر و ماده به استرس می‌تواند در رابطه با فازهای مختلف سیکل استروس و در نتیجه تغییر میزان هورمون استروژن باشد (37) و در مقایسه بین رت‌های نر و ماده اختلاف معنی‌داری در تغییر حافظه فضایی مشاهده نشد و هم راستا با یافته‌های ما نتایج پژوهشی است که نشان داد بین جنس و انتخاب تنابویی در یک ماز 4 بازویی اختلاف معناداری مشاهده نشده است (38).

هیپوکامپ ساختمان دو جنسی دارد و محرک‌های محیطی منجر به سازش‌های وابسته به جنس در هیپوکامپ می‌شوند (39). تغییرات در بیان ژن در ناحیه هیپوکامپ ممکن است با ظهور آسیب‌های حافظه مختص جنس در بیماری‌هایی مانند PTSD نقش داشته باشد (40). یک مسیر سیگنالینگ از طریق استروژن که باعث افزایش بیان BDNF در آمیگدال و هیپوکامپ شده و می‌تواند زمینه‌ساز تأثیر استروژن بر اعمال رفتاری باشد شناسایی شده است (41). رسپتورهای استروژن به مقدار فراوان در قشر مغز و در هیپوکامپ مغز رت وجود دارند (42)، با توجه به تراکم بالای رسپتورهای استروژن در ناحیه هیپوکامپ می‌توان احتمال داد که استروژن در هیپوکامپ نقش تعدیل‌کننده بر پاسخ به استرس را داشته باشد.

مشاهده کردیم که SPS در رت‌های ماده در حافظه اختلالی ایجاد نکرد، اما ورزش و فلوکستین بر بهبود حافظه تأثیر داشت و هم راستا با مطالعه ما گزارش شده است که ورزش باعث بهبود حافظه فضایی در موش‌های ماده می‌شود (43).

در انسان‌ها BDNF پلاسما در طی سیکل قاعدگی نوسان داشته و زنانی که سیکل‌های تخمک‌گذاری نرمالی را تجربه می‌کنند نسبت به به زنان آمنوره یا پس از منوپوز BDNF پلاسمایی بیش‌تری دارند (39). در این مطالعه مشخص شد که SPS باعث کاهش میزان BDNF هیپوکامپی در رت‌های نر شده اما در رت‌های ماده کاهش میزان BDNF تحت تأثیر SPS معنادار نبود،

کاهش حافظه فضایی در رت‌های نر، می‌تواند مرتبط با کاهش BDNF باشد.

مشاهده کردیم که ورزش و همچنین ورزش و فلوکستین با هم باعث افزایش میزان BDNF در هیپوکامپ می‌شوند؛ اما فلوکستین به تنهایی افزایش معنی‌داری در BDNF هیپوکامپ ایجاد نمی‌کند. مطالعه دیگری نیز گزارش کرده است که BDNF هیپوکامپی در یک مدل حیوانی PTSD کاهش می‌یابد (44) و در مطالعاتی هم‌راستا با مطالعه ما گزارش شد که ترکیب ورزش ارادی و درمان با داروی ضدافسردگی بیان BDNF در هیپوکامپ را افزایش می‌دهد (45، 46). با توجه به این که ما مشاهده کردیم فلوکستین قادر به افزایش حافظه است، احتمالاً تأثیر مثبت فلوکستین بر حافظه از طریق واسطه‌ای غیر از BDNF می‌باشد. این یافته‌ها از نتایج مطالعات دیگری که نشان دادند ورزش و داروی ضدافسردگی باهم، اما نه داروی ضدافسردگی به تنهایی، بیان mRNA مربوط به BDNF را در نواحی مختلف هیپوکامپ افزایش می‌دهد حمایت می‌کنند (47). BDNF تغییرات عملکردی و مورفولوژیکی و بهبود شناخت القاء شده توسط ورزش را موجب می‌شود (48، 49). با توجه به این که برخی داروهای ضدافسردگی (مانند فلوکستین) باعث افزایش BDNF می‌شوند، میزان BDNF سرم نشان‌دهنده اثربخشی داروهای ضدافسردگی و پاسخگویی بیمار به درمان می‌باشد، که این پاسخگویی همراه با تغییرات نوروپلاستیکی می‌باشد (45).

مطالعه موجود در تأیید مطالعات قبلی نشان داد مداخله‌های انجام‌شده باعث افزایش BDNF هیپوکامپ در رت‌های گروه حیوانات سالم نیز می‌شود (14). ورزش و فلوکستین همراه باهم توانستند میزان BDNF را در هر دو گروه حیوانات سالم و SPS به‌طور معناداری افزایش بدهند. در این گروه نیز تأثیر ورزش و دارو به صورت توأم بیش از اثر هر یک از فاکتورها به تنهایی بود. دلیل پاسخگویی متفاوت رت‌های نر و ماده به مداخله انجام شده، تأثیر هورمون استروژن بر مسیر سیگنالینگ

BDNF می‌باشد. نشان داده شده است که 17-بتا استرادیول از طریق القای سنتز BDNF بر سیناپتوزنرین تأثیر می‌گذارد (50). نحوه عملکرد استروژن به وسیله تأثیر استروژن بر ژن BDNF و القای سنتز BDNF قابل توضیح است (51).

در مطالعه ما SPS کاهش معنی‌داری در سطح BDNF هیپوکامپ در رت‌های ماده ایجاد نکرد، احتمال دارد که رت‌های ماده در مرحله‌ای از سیکل جنسی بوده‌اند که سطح استروژن بالا بوده و بنا بر مطالعات انجام شده استروژن تأثیر مثبتی بر سنتز BDNF در هیپوکامپ داشته است و بنابراین مانع کاهش سطح BDNF در هیپوکامپ تحت تأثیر استرس شده است.

مقایسه بین گروه‌های نر و ماده نشان داد که در گروه رت‌های ماده سالم تأثیر توأم ورزش و دارو افزایش معنی‌داری در میزان BDNF هیپوکامپ ایجاد کرد. احتمالاً علاوه بر مداخله توأم، سطح استروژن در نوع ماده قادر بوده میزان BDNF در هیپوکامپ رت‌های ماده بدون استرس را در مقایسه با رت‌های نر بدون استرس افزایش بدهد. درحالی که در گروه SPS اثر ورزش در حیوانات نر در افزایش میزان BDNF بیش از گروه ماده بود.

BDNF تنها در مغز بیان نمی‌شود، در بافت‌های محیطی مانند عضله اسکلتی، عضله صاف، لنفوسیت‌ها، اندوتلیوم و پلاکت‌ها نیز بیان می‌شود، برخی منابع گزارش کرده‌اند که BDNF موجود در گردش خون از منابع محیطی و مرکزی منشأ می‌گیرد و قادر است از سد بین خون و مغز در هر دو جهت عبور کند (52). باوجود گزارش‌هایی که ارتباط قابل توجه بین میزان BDNF سرمی و قشری را نشان می‌دهند (53) و این که میزان BDNF سرمی می‌تواند نمایشگر مقادیر قشری باشد (54)، در مطالعه ما تغییر معنی‌داری در میزان BDNF سرم در رت‌های SPS مشاهده نشد، اما ورزش و دارو به صورت توأم باعث افزایش میزان آن در رت‌های نر و ماده گروه SPS شدند و هم‌راستا با مطالعه ما، برخی

استروس در جنس مؤنث طراحی شده‌اند و شاید تست‌های مذکور از اعتبار لازم برای ارزیابی حافظه در جنس مؤنث برخوردار نباشند. به طور کلی، یافته‌های مطالعه موجود ثابت کرد که ورزش تردمیل با شدت متوسط و داروی ضدافسردگی فلوکستین و خصوصاً درمان توأم آن‌ها باعث بهبود حافظه فضایی، افزایش میزان BDNF در هیپوکامپ حیوانات PTSD می‌شود. می‌توان از SPS به عنوان یک مدل حیوانی مناسب برای مطالعه PTSD استفاده نمود. با توجه به اینکه اثر توأم دو درمان بسیار قوی‌تر از اثر هر یک از دو مداخله به تنهایی بود، یک برنامه ورزش فیزیکی همراه با داروی فلوکستین به عنوان یک روش درمانی مفیدتر برای درمان PTSD پیشنهاد می‌شود. ممکن است مدل‌های حیوانی موجود برای موش‌های ماده مناسب نباشند و موش‌های ماده به‌طور متفاوتی این استرسورها را درک کنند؛ بنابراین گسترش پروتکل‌های رفتاری جدید برای ارزیابی تغییرات رفتاری در جنس مؤنث پس از مواجهه با استرس، مورد نیاز است.

سپاسگزاری

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC>1398.1061 می‌باشد. بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و مرکز تحقیقات فیزیولوژی سمنان که امکانات و بودجه این پروژه تحقیقاتی را فراهم نمودند اعلام می‌داریم.

References

- Hendriksen H. From non-pharmacological interventions to therapeutic targets for the treatment of PTSD. Utrecht University; Netherlands. 2012.
- Zoladz PR, Fleshner M, Diamond DM. Differential effectiveness of tianeptine, clonidine and amitriptyline in blocking traumatic memory expression, anxiety and hypertension in an animal model of PTSD. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2013; 44: 1-16.
- Brinks V. Stress, emotion and cognition: role of mineralo-and glucocorticoid receptors: Division Medical Pharmacology, Leiden/

مطالعات نیز نشان دادند که ورزش می‌تواند BDNF مرکزی را افزایش بدهد بدون اینکه تأثیر مشخصی بر مقادیر محیطی داشته باشد (55). با توجه به اینکه BDNF سرمی از منابع مختلف تأمین می‌شود، ممکن است فاکتورهای دیگری به غیر از ورزش و داروی فلوکستین بر ترشح آن در بافت‌های محیطی تأثیر داشته باشد. همچنین نوع ورزش انتخاب شده، ارادی یا غیرارادی بودن آن و یا شدت ورزش و یا طول مدت ورزش همه می‌توانند از عوامل تأثیرگذار بر اختلاف بین داده‌های به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر و مطالعات دیگر با نتایج متفاوت باشند.

در بررسی تأثیر داروهای ضد افسردگی بر میزان BDNF، مطالعات قبلی گزارش کرده‌اند که درمان مزمن با داروهای ضدافسردگی باعث افزایش بیان BDNF در هیپوکامپ می‌شود و ورزش قادر به تشدید این اثر است (56,53,45) که نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه ما را تأیید می‌کند. در تأیید یافته‌های ما، برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که تأثیر داروهای ضدافسردگی به تنهایی منجر به تغییر مشخصی در BDNF نمی‌شود و تأثیر داروی ضدافسردگی و ورزش به‌صورت توأم موجب افزایش بیان این ژن (58,57) در نواحی مختلف هیپوکامپ (47) می‌شود. در میزان BDNF سرم بین رت‌های نر و ماده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. عدم وجود اختلاف معنا دار در تست‌های انجام شده بین دو جنس می‌تواند به این دلیل باشد که تمامی تست‌های مربوط به ارزیابی برای جنس مذکر و بدون در نظر گرفتن سیکل‌های

- Amsterdam Center for Drug Research (LACDR); 2009.
4. Brennan FX, Beck KD, Ross RJ, Servatius RJ. Stress-induced increases in avoidance responding: an animal model of post-traumatic stress disorder behavior? *Neuropsychiatr Dis Treat* 2005; 1(1): 69-72.
 5. Rady A, Elsheshai A, Elkholy O, el Wafa HA. Psychogenetics of post-traumatic stress disorder: a short review. *The Application Of Clinical Genetics* 2010; 3: 103-108.
 6. Mehta D, Binder EB. Gene× environment vulnerability factors for PTSD: The HPA-axis. *Neuropharmacology* 2012; 62(2): 654-662.
 7. Kim BK, Seo JH. Treadmill exercise alleviates post-traumatic stress disorder-induced impairment of spatial learning memory in rats. *J Exerc Rehabil* 2013; 9(4): 413-419.
 8. Zoladz PR. An ethologically relevant animal model of post-traumatic stress disorder: Physiological, pharmacological and behavioral sequelae in rats exposed to predator stress and social instability. PhD Thesis. University of South Florida; 2008.
 9. Mahan AL, Ressler KJ. Fear conditioning, synaptic plasticity and the amygdala: implications for posttraumatic stress disorder. *Trends Neurosci* 2012; 35(1):24-35.
 10. Vivar C, Potter MC, van Praag H. All about running: synaptic plasticity, growth factors and adult hippocampal neurogenesis. *Curr Top Behav Neurosci* 2013; 15: 189-210.
 11. Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(7): 3017-3022.
 12. Heim C, Nemeroff CB. Neurobiology of posttraumatic stress disorder. *CNS Spectr* 2009; 14(1 Suppl 1):13-24.
 13. Karpova NN, Pickenhagen A, Lindholm J, Tiraboschi E, Kuleskaya N, Ágústssdóttir A, et al. Fear erasure in mice requires synergy between antidepressant drugs and extinction training. *Science* 2011; 334(6063): 1731-1734.
 14. Van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci* 2005; 25(38): 8680-8685.
 15. Mustroph ML, Chen S, Desai SC, Cay EB, DeYoung EK, Rhodes JS. Aerobic exercise is the critical variable in an enriched environment that increases hippocampal neurogenesis and water maze learning in male C57BL/6J mice. *Neuroscience* 2012; 219: 62-71.
 16. Angelucci F, Ricci V, Gelfo F, Martinotti G, Brunetti M, Sepede G, et al. BDNF serum levels in subjects developing or not post-traumatic stress disorder after trauma exposure. *Brain Cogn* 2014; 84(1): 118-122.
 17. Daskalakis NP, McGill MA, Lehrner A, Yehuda R. Endocrine Aspects of PTSD: Hypothalamic-Pituitary-Adrenal (HPA) Axis and Beyond In: *Comprehensive Guide to Post-Traumatic Stress Disorder*. Martin CR, PreedyVR, Patel VB. (Eds.) Switzerland, Springer. 2016. p. 245-260.
 18. Zong WX, Lindsten T, Ross AJ, MacGregor GR, Thompson CB. BH3-only proteins that bind pro-survival Bcl-2 family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak. *Genes Dev* 2001; 15(12): 1481-1486.
 19. Keller SM, Schreiber WB, Stanfield BR, Knox D. Inhibiting corticosterone synthesis during fear memory formation exacerbates cued fear extinction memory deficits within the single prolonged stress model. *Behav Brain Res* 2015; 287: 182-186.

20. Pinna G. In a mouse model relevant for post-traumatic stress disorder, selective brain steroidogenic stimulants (SBSS) improve behavioral deficits by normalizing allopregnanolone biosynthesis. *Behav Pharmacol* 2010; 21(5-6): 438-450.
21. Cover K, Maeng L, Lebrón-Milad K, Milad M. Mechanisms of estradiol in fear circuitry: implications for sex differences in psychopathology. *Transl Psychiatry* 2014; 4(8): e422.
22. Liberzon I, Krstov M, Young EA. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology* 1997; 22(6): 443-453.
23. Patki G, Li L, Allam F, Solanki N, Dao AT, Alkadhhi K, et al. Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Physiol Behav* 2014; 130: 47-53.
24. Han F, Xiao B, Wen L, Shi Y. Effects of fluoxetine on the amygdala and the hippocampus after administration of a single prolonged stress to male Wistar rats: In vivo proton magnetic resonance spectroscopy findings. *Psychiatry Res* 2015; 232(2): 154-161.
25. Deacon RM, Rawlins JNP. T-maze alternation in the rodent. *Nat Protoc* 2006; 1(1): 7-12.
26. Eagle AL, Knox D, Roberts MM, Mulo K, Liberzon I, Galloway MP, et al. Single prolonged stress enhances hippocampal glucocorticoid receptor and phosphorylated protein kinase B levels. *Neurosci Res* 2013; 75(2): 130-137.
27. Liberzon I, Garfinkel SN. Functional neuroimaging In: post-traumatic stress disorder. *Post-Traumatic Stress Disorder: LeDoux J, Keane T, Shiromani P. (eds). New Jersey. Springer; 2009. p. 297-317.*
28. Shafia S, Vafaei AA, Samaei SA, Bandegi AR, Rafiei A, Valadan R, et al. Effects of moderate treadmill exercise and fluoxetine on behavioural and cognitive deficits, hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction and alternations in hippocampal BDNF and mRNA expression of apoptosis-related proteins in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Neurobiol Learn Mem* 2017; 139: 165-178.
29. Kohda K, Harada K, Kato K, Hoshino A, Motohashi J, Yamaji T, et al. Glucocorticoid receptor activation is involved in producing abnormal phenotypes of single-prolonged stress rats: a putative post-traumatic stress disorder model. *Neuroscience* 2007; 148(1): 22-33.
30. Iwamoto Y, Morinobu S, Takahashi T, Yamawaki S. Single prolonged stress increases contextual freezing and the expression of glycine transporter 1 and vesicle-associated membrane protein 2 mRNA in the hippocampus of rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007; 31(3): 642-651.
31. Lee TM, Wong ML, Lau BW, Chia-Di Lee J, Yau SY, So KF. Aerobic exercise interacts with neurotrophic factors to predict cognitive functioning in adolescents. *Psychoneuroendocrinology* 2014; 39: 214-224.
32. Khabour OF, Alzoubi KH, Alomari MA, Alzubi MA. Changes in spatial memory and BDNF expression to simultaneous dietary restriction and forced exercise *Brain Res Bull* 2013; 90:19-24.
33. Wolf OT, Schommer NC, Hellhammer DH, McEwen BS, Kirschbaum C. The relationship between stress induced cortisol levels and memory differs between men and women. *Psychoneuroendocrinology* 2001; 26(7): 711-720.

34. Conrad CD, Jackson JL, Wiczorek L, Baran SE, Harman JS, Wright RL, et al. Acute stress impairs spatial memory in male but not female rats: influence of estrous cycle. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 78(3): 569-579.
35. Diamond DM, Fleshner M, Ingersoll N, Rose G. Psychological stress impairs spatial working memory: relevance to electrophysiological studies of hippocampal function. *Behav Neurosci* 1996; 110(4): 661-672.
36. Diamond DM, Park CR, Heman KL, Rose GM. Exposing rats to a predator impairs spatial working memory in the radial arm water maze. *Hippocampus* 1999; 9(5): 542-552.
37. Park CR, Zoladz PR, Conrad CD, Fleshner M, Diamond DM. Acute predator stress impairs the consolidation and retrieval of hippocampus-dependent memory in male and female rats. *Learn Mem* 2008; 15(4): 271-280.
38. Ribeiro AM, Barbosa FF, Godinho MR, Fernandes VS, Munguba H, Melo TG, et al. Sex differences in aversive memory in rats: possible role of extinction and reactive emotional factors. *Brain Cogn* 2010; 74(2): 145-151.
39. Venezia AC, Guth LM, Sapp RM, Spangenburg EE, Roth SM. Sex-dependent and independent effects of long-term voluntary wheel running on BDNF mRNA and protein expression. *Physiol Behav* 2016; 156:8-15.
40. Keiser A. Sex Differences in Retrieval of Context Fear: Behavioral and Neural Mechanisms. PhD Thesis. University of Michigan. 2018.
41. Zhou J, Zhang H, Cohen RS, Pandey SC. Effects of estrogen treatment on expression of BDNF and CREB expression and phosphorylation in rat amygdaloid and hippocampal structures. *Neuroendocrinology* 2005; 81(5): 294-310.
42. Zhao L, Wu Tw, Brinton RD. Estrogen receptor subtypes alpha and beta contribute to neuroprotection and increased Bcl-2 expression in primary hippocampal neurons. *Brain Res* 2004; 1010(1): 22-34.
43. Lambert TJ, Fernandez SM, Frick KM. Different types of environmental enrichment have discrepant effects on spatial memory and synaptophysin levels in female mice. *Neurobiol Learn Mem* 2005; 83(3): 206-216.
44. Kozlovsky N, Matar MA, Kaplan Z, Kotler M, Zohar J, Cohen H. Long-term down-regulation of BDNF mRNA in rat hippocampal CA1 subregion correlates with PTSD-like behavioural stress response. *Int J Neuropsychopharmacol* 2007; 10(6): 741-758.
45. Arunrut T, Alejandre H, Chen M, Cha J, Russo-Neustadt A. Differential behavioral and neurochemical effects of exercise, reboxetine and citalopram with the forced swim test. *Life Sci* 2009; 84(17): 584-589.
46. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62(6): 593-602.
47. Garza AA, Ha TG, Garcia C, Chen MJ, Russo-Neustadt AA. Exercise, antidepressant treatment, and BDNF mRNA expression in the aging brain. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 77(2): 209-220.
48. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 2002; 25(6): 295-301.

49. Kondo M, Shimada S. Serotonin and exercise-induced brain plasticity. *Neurotransmitter* 2015; 2: e793.
50. Pluchino N, Russo M, Santoro A, Litta P, Cela V, Genazzani A. Steroid hormones and BDNF. *Neuroscience* 2013; 239: 271-279.
51. Scharfman HE, Hintz TM, Gomez J, Stormes KA, Barouk S, Malthankar hatak GH, et al. Changes in hippocampal function of ovariectomized rats after sequential low doses of estradiol to simulate the preovulatory estrogen surge. *Eur J Neurosci* 2007; 26(9): 2595-2612.
52. Ferris LT, Williams J S, Shen CL. The effect of acute exercise on serum brain-derived neurotrophic factor levels and cognitive function. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39(4): 728-734.
53. Karege F, Perret G, Bondolfi G, Schwald M, Bertschy G, Aubry J-M. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res* 2002; 109(2): 143-148.
54. Maass A, Düzel S, Brigadski T, Goerke M, Becke A, Sobieray U, et al. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. *NeuroImage* 2016; 131: 142-154.
55. Powers MB, Medina JL, Burns S, Kauffman BY, Monfils M, Asmundson GJ, et al. Exercise augmentation of exposure therapy for PTSD: Rationale and pilot efficacy data. *Cogn Behav Ther* 2015; 44(4): 314-327.
56. Numakawa T, Suzuki S, Kumamaru E, Adachi N, Richards M, Kunugi H. BDNF function and intracellular signaling in neurons. *Histol Histopathol* 2010; 25(2): 237-258.
57. Solanki N, Alkadhi I, Atrooz F, Patki G, Salim S. Grape powder prevents cognitive, behavioral, and biochemical impairments in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Nutr Res* 2015; 35(1): 65-75.
58. Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, Rasmussen P, Nordby P, Stallknecht B, et al. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp* 2010; 298(2): R372-R377.