

The Effects of High-Intensity Exercise on Anxiety-Like Behaviors, Fear Extinction, Neurotrophic Factors, and Expression of Apoptosis-Related Factors Induced by Stress in Rat Brain

Moslem Mohammadi^{1,2},
Mehdi Jahandar³,
Zhoobin Kalantari³,
Sakineh Shafia^{4,2}

¹ Associate Professor, Department of Physiology, Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Medical Student, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Physiology, Immunogenetic Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received August 16, 2023 ; Accepted September 17, 2023)

Abstract

Background and purpose: Post-traumatic stress disorder (PTSD), a type of psychiatric disorder that occurs after exposure to traumatic events, is associated with anxiety and abnormality in the activity of hypothalamic-pituitary-adrenal axis and cognitive functions. Physical activity can improve symptoms of somatic and neuropsychiatric disorders; however, appropriate exercise intensity and duration are still in question. In the present study, the effects of high-intensity exercise on anxiety-like behaviors, fear extinction, serum insulin-like growth factor (IGF-1), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), and expression of apoptosis-related genes were investigated in the prefrontal cortex of the rat PTSD model.

Materials and methods: In this experimental study, single prolonged stress (SPS) was used to induce PTSD in adult male Wistar rats. After 10 days, the animals in the exercise groups were subjected to high-intensity treadmill exercise (20 m/min, 5 days/week) for four weeks. Next, anxiety-like behaviors and fear extinction were examined using open field and shuttle box tests, respectively. Thereafter, serum IGF-1 and brain BDNF were measured by ELISA kits; and expression of Bax, Bcl-2, and caspase-3 in the prefrontal cortex were measured by real-time PCR.

Results: SPS rats showed increased anxiety and decreased fear extinction, serum IGF-1, and prefrontal BDNF compared to the control animals. In addition, SPS induced apoptosis by an increase in Bax and caspase-3 and a decrease in Bcl-2. High-intensity exercise reduced apoptosis and increased serum IGF-1 significantly ($P < 0.05$).

Conclusion: High-intensity exercise decreases anxiety-like behaviors by increasing serum IGF-1 and inhibiting apoptosis in the prefrontal cortex of PTSD rats.

Keywords: single prolonged stress, high-intensity exercise, anxiety, fear extinction, apoptosis

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (225): 16-30 (Persian).

Corresponding Author: Sakineh Shafia - Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
(E-mail: srshafia@yahoo.com)

اثرات ورزش با شدت بالا بر رفتارهای شبه اضطرابی، خاموشی ترس، فاکتورهای نوروتروفیک و بیان ژنهای مرتبط با آپوپتوز ناشی از القاء استرس در مغز موش صحرایی

مسلم محمدی^{2,1}مهدی جهاندار³ژوبین کلانتری³سکینه شفیعا^{2,4}

چکیده

سابقه و هدف: اختلال استرس پس از سانحه (PTSD) نوعی اختلال روان‌پریشی است که پس از مواجهه با وقایع تروماتیک رخ می‌دهد و با اضطراب و اختلال در فعالیت محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی-آدرنالی و اعمال شناختی همراه می‌شود. فعالیت بدنی می‌تواند منجر به بهبود علائم اختلالات جسمی و روانی شود، با این حال شدت و مدت تمرین مناسب هنوز جای سؤال دارد. مطالعه حاضر، با هدف بررسی اثرات ورزش با شدت بالا بر رفتارهای شبه اضطرابی، خاموشی ترس، فاکتور رشد شبه‌انسولینی (IGF-1) سرم، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و بیان ژنهای مرتبط با آپوپتوز در قشر پره فرونتال مدل PTSD موش صحرایی، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، از استرس واحد طولانی مدت (SPS) برای القاء PTSD در موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. پس از 10 روز، حیوانات در گروه‌های ورزشی به مدت 4 هفته تحت تمرینات با شدت بالا بر روی تردمیل (با سرعت 20 متر در دقیقه، 5 روز در هفته) قرار گرفتند. در ادامه، رفتارهای شبه اضطرابی و خاموشی ترس به ترتیب با استفاده از آزمون‌های میدان باز و شاتل باکس بررسی شدند. سپس IGF-1 سرم و BDNF مغز و بیان Bcl-2، Caspase-3 و در قشر پره فرونتال به ترتیب با استفاده از کیت‌های الایزا و Real-time PCR اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: موش‌های SPS افزایش اضطراب و کاهش خاموشی ترس، IGF-1 سرمی و BDNF پره فرونتال را در مقایسه با حیوانات کنترل نشان دادند. علاوه بر این، SPS با افزایش Bax و کاسپاز-3 و کاهش Bcl-2 منجر به القاء آپوپتوز شد. ورزش با شدت بالا به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) باعث کاهش آپوپتوز و افزایش IGF-1 سرم شد.

استنتاج: ورزش با شدت بالا از طریق افزایش IGF-1 سرم و مهار آپوپتوز در قشر پره فرونتال موش‌های صحرایی مبتلا به PTSD، رفتارهای شبه اضطرابی را کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: استرس واحد طولانی مدت، ورزش با شدت بالا، اضطراب، خاموشی ترس، آپوپتوز

مقدمه

مواجهه با شرایط استرس‌زا تأثیرات مهمی بر سیستم‌های مختلف بدنی داشته و فرد را در معرض بسیاری از اختلالات جسمی و روانی قرار می‌دهد. یکی از این بیماری‌ها، اختلال استرس پس از سانحه

E-Mail: srshafia@yahoo.com

مؤلف مسئول: سکینه شفیعا - ساری: کیلومتر 17 جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پزشکی

1. دانشیار، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

4. استادیار، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات ایمنونئیک، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1402/5/25 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/5/29 تاریخ تصویب: 1402/6/26

(Post-traumatic stress disorder: PTSD) می‌باشد که به دلیل مواجهه با حوادث تروماتیک از قبیل تصادف، بلایای طبیعی، جنگ، تعرضات جسمی و روحی ایجاد می‌شود و بر سلامت و عملکرد ذهنی و جنبه‌های مختلف زندگی تأثیر می‌گذارد (1،2). بسیاری از سیستم‌های فیزیولوژیک و ساختارهای مغزی مانند آمیگدال، هیپوکمپ و قشر پره‌فرونتال (Prefrontal cortex: PFC) در PTSD دستخوش تغییر می‌شوند (3). PFC از طریق پروجکشن‌هایی که با نورون‌های نورآدرنژیک دارد، برانگیختگی را کنترل کرده و در ایجاد پاسخ آرام، منطقی و قابل انعطاف نقش دارد. در افراد مبتلا به PTSD، فعالیت نواحی هیپوکمپ و PFC به دلیل کاهش فاکتورهای نوروتروفیک و افزایش روند مرگ سلولی به دنبال استرس کاهش می‌یابد (4).

درمان‌های رایج PTSD، شامل درمان‌های غیر دارویی و دارویی می‌شود. مهارکننده‌های اختصاصی باز جذب سروتونین (Selective serotonin reuptake inhibitors: SSRIs) به دلیل اثر بخشی بیش تر نسبت به سایر داروها به عنوان خط اول درمان شناخته می‌شوند، با این وجود به دلیل بروز اثرات جانبی نیازمند یافتن روش‌های درمانی جدید می‌باشد (3). یافتن راه‌های درمانی جدید که علاوه بر سودمندی بیش تر، کم‌ترین اثرات جانبی را داشته باشند حائز اهمیت است. اثرات مثبت فعالیت فیزیکی در بیماران PTSD شناسایی شده است (5). امروزه ورزش به‌طور گسترده‌ای برای کاهش بیماری‌های قلبی - عروقی، بیماری‌های متابولیک، افزایش طول عمر و بهبود سلامت روانی توصیه می‌شود (6). علاوه بر این، ورزش اثرات مفیدی بر عملکرد و شکل پذیری سیستم عصبی داشته، تولید نورون‌های جدید، طول و تراکم خارهای دندریتی را افزایش می‌دهد (7،8). طیف وسیعی از تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک به دنبال ورزش رخ می‌دهند که نقش مهمی در وساطت اثر ورزش بر عملکرد و ساختار مغز بازی می‌کنند (9). فاکتور نوروتروفیک مشتق

از مغز (Brain-derived neurotrophic factor: BDNF) و فاکتور رشد شبه انسولینی - 1 (Insulin-like growth factor-1: IGF-1) در وساطت اثر ورزش بر مغز مؤثرند و میزان آن‌ها حین ورزش در محیط بدن و مغز افزایش می‌یابد (10). این فاکتورها اثرات ورزش بر یادگیری، حافظه، نورون‌زایی و شکل‌پذیری نورون‌ها را افزایش می‌دهند، به گونه‌ای که بلوک گیرنده‌های آن‌ها می‌تواند به میزان قابل ملاحظه‌ای مانع بروز اثرات ورزش بر عملکرد مغز شود (10،11). BDNF فاکتوری اثرگذار بر اعصاب است که در انتقال عصبی و تعدیل و پلاستیسیته سیناپسی نقش داشته و در اکثر نواحی قشری مغز تولید می‌شود (12). IGF-1 در مناطق مختلفی از بدن تولید می‌شود و بیان آن توسط هورمون رشد کنترل می‌گردد (13). با وجود این که کبد محل اصلی ساخت IGF-1 می‌باشد، این فاکتور می‌تواند به روش ترانس‌سیتوز از سد خون - مغز عبور کند و بیان آن در سیستم عصبی مرکزی نیز گزارش شده است (14). این فاکتور پروتئینی اثرات گسترده‌ای بر بدن از جمله رشد، تکامل، متابولیسم و تنظیم طول عمر دارد (15). این فاکتور در نواحی کورتکس، هیپوکامپ، مخچه و هیپوتالاموس سبب افزایش نوروپلاستیسیته می‌شود (16). IGF-1 از طریق کنترل عملکرد BDNF و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular endothelial growth factor: VEGF) واسطه تأثیر ورزش بر سلامت مغز می‌باشد. در انسان‌ها سطح IGF-1 در پاسخ به فعالیت فیزیکی به سرعت افزایش می‌یابد که نقش اساسی آن در نورون‌زایی و بهبود شناخت القاء شده توسط ورزش در ارتباط با BDNF را توجیه می‌کند (17).

آپوپتوز نقش مهمی در تمایز و هومئوستاز بافتی ایفا می‌کند. براساس محرک‌های پاتولوژیک و فیزیولوژیک مختلف، مسیرهای متعددی برای آپوپتوز وجود دارد که شامل مسیر داخلی (میتوکندریایی) و مسیر خارجی (رستپورهای مرگ) می‌شوند. آپوپتوز نقش مهمی در

دفاع از ارگانسیم در مقابل عوامل پاتوژن بازی می کند، اگرچه در پاتوژن بیماری های نورودژنراتیو نیز نقش دارد. استرس از طریق فعالسازی مسیر داخلی می تواند منجر به آتروفی و در نتیجه تغییرات مورفولوژیکی نواحی مختلف مغزی شود (18).

با وجود این که اثرات مثبت ورزش در درمان بیماری های نورودژنراتیو شناسایی شده است، اما نوع و شدت و مدت ورزشی که قادر است این اثرات را ایجاد نماید، هنوز به طور قطع مشخص نشده است. استفاده از برخی برنامه های ورزشی نامناسب نه تنها سودمند نمی باشد، بلکه می تواند منجر به آسیب های جسمی و روانی نیز شود. این مطالعه با هدف تعیین نقش محافظتی تمرین ورزشی با شدت بالا بر رفتارهای شبه اضطرابی و خاموشی ترس، سطوح سرمی IGF-1 و BDNF مغز و بیان ژن های مرتبط با آپوپتوز (Bcl-2, Bax, Caspase-3) در قشر پره فرونتال موش های صحرایی مبتلا به PTSD با استفاده از القاء استرس واحد طولانی مدت (Single prolonged stress: SPS) طراحی گردید.

مواد و روش ها

حیوانات

در این مطالعه مداخله ای تجربی، از موش های صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی 200-250 گرم استفاده شد (40 سر در 4 گروه). حیوانات در درجه حرارت محیط $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ با دوره نوری طبیعی (12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی) در مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران نگهداری می شدند و در طول مطالعه آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. کلیه آزمایشات طبق پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران (کدهای اخلاق: IR.MAZUMS.4.REC.1400.11701 و IR.MAZUMS.4.REC.1400.11702) صورت گرفت. ابتدا حیوانات به دو گروه، گروه کنترل و

گروهی که در معرض استرس (SPS) قرار گرفتند، تقسیم شدند. سپس حیوانات هر گروه به طور تصادفی به دو زیر گروه غیر ورزشی (Sedentary) و ورزشی (Exercise) تقسیم شدند. چهار گروه مورد مطالعه به ترتیب، Control/Exercise، Control/Sedentary، SPS/Exercise و SPS/Sedentary می باشد.

روش القاء مدل PTSD

مدل PTSD از طریق SPS و در سه مرحله، محدود نمودن حیوان به مدت 2 ساعت در یک مقیدساز (Restrainer)، شنای اجباری (Forced swim) به مدت 20 دقیقه و القاء بیهوشی با دی اتیل اتر انجام شد و سپس حیوان به مدت 10 روز در قفس نگهداری گردید (19).

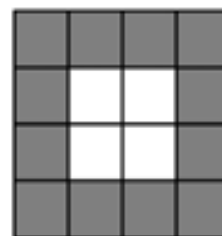
روش ورزش اجباری شدید با استفاده از تردمیل

از دستگاه تردمیل (Treadmill) برقی ساخت شرکت برج صنعت استفاده شد. ابتدا عادت کردن حیوانات گروه ورزشی انجام شد (3 روز، روزی 15 دقیقه با سرعت 3 متر در دقیقه). برنامه ورزشی شامل، 4 هفته، هر هفته 5 روز و هر روز 60 دقیقه با سرعت 20 متر در دقیقه (پس از هر 30 دقیقه دوییدن، 15 دقیقه استراحت در نظر گرفته می شد) بوده است. به منظور همسان سازی استرس ناشی از قرار گرفتن بر روی تردمیل، حیوانات گروه های بدون ورزش نیز برای مدتی مشابه بر روی تردمیل ثابت قرار گرفتند. پس از پایان ورزش، سنجش اضطراب با آزمون میدان باز (Open field test) و سنجش خاموشی ترس (Fear extinction) با استفاده از دستگاه شاتل باکس انجام شد.

روش انجام آزمون میدان باز

برای ارزیابی اضطراب حیوان از آزمون میدان باز استفاده شد. این دستگاه شامل جعبه ای است با کفی به ابعاد 72×72 سانتی متر که به 16×18 مربع تقسیم می شد (تصویر شماره 1). حیوانات به طور جداگانه در مرکز میدان قرار گرفتند و رفتار آن ها به مدت 5 دقیقه

توسط دوربین ثبت و پارامترهای زیر توسط نرم افزار محاسبه گردید. کل مسافت طی شده توسط حیوان (Total distance)، مدت زمان صرف شده در مرکز (Time spent in the central zone) و مدت زمان صرف شده در محیط (Time spent in the marginal zone) بوده است. افزایش مدت زمان صرف شده در مرکز و مسافت طی شده به عنوان یک اثر شبه اضطرابی محسوب می شود (20).



تصویر شماره 1: تقسیم بندی میدان باز به نواحی محیطی (تیره) و مرکزی (روشن).

روش انجام آزمون خاموشی ترس

برای این آزمون از دستگاه شاتل باکس استفاده شد. دستگاه از 2 اتاقک مجزا با ابعاد 30 × 20 سانتی متر و ارتفاع 20 سانتی متر تشکیل می شود. دو اتاقک به وسیله یک دریچه گیوتینی از هم جدا شده و دیواره و کف یکی از اتاقک ها، سفید (اتاقک روشن) و دیگری سیاه (اتاقک تیره) می باشد. کف هر دو اتاقک میله های فلزی موازی دارد و از طریق کف قسمت تاریک می توان شوک الکتریکی (با فرکانس، شدت و مدت مشخص) به پای حیوان وارد نمود. مراحل آزمون عبارت است از: مرحله شرطی شدن (Conditioning): حیوان در اتاقک روشن قرار می گیرد. هنگامی که به طور غریزی وارد اتاقک تاریک شد، دریچه گیوتینی بسته شده و پس از 20 ثانیه شوک الکتریکی با فرکانس 50 هرتز و شدت 1 میلی آمپر به مدت 3 ثانیه به کف پای حیوان اعمال گردید، لذا به طور شرطی حیوان یاد می گیرد که وارد اتاقک تاریک نشود. حیوان به مدت 60 ثانیه در قسمت تاریک باقی ماند و سپس به قفس منتقل شد.

تست خاموشی (Extinction): 24 ساعت بعد حیوان به دستگاه، منتقل و مدت زمان تأخیر در ورود به قسمت تاریک اندازه گیری می شود. در صورتی که حیوان پس از مدت 180 ثانیه وارد قسمت تاریک نشود، به قسمت تاریک رانده می شود. در این مرحله شوکی به حیوان وارد نشده و به مدت 180 ثانیه در قسمت تاریک باقی ماند. این فرایند به مدت چهار روز متوالی تکرار می شود (Extinction 1-4) و در نهایت % Extinction طبق فرمول زیر محاسبه می گردد (21).

$$\% \text{Extinction} = \frac{\text{Extinction 4} - \text{Extinction 1}}{\text{Extinction 1}} \times 100$$

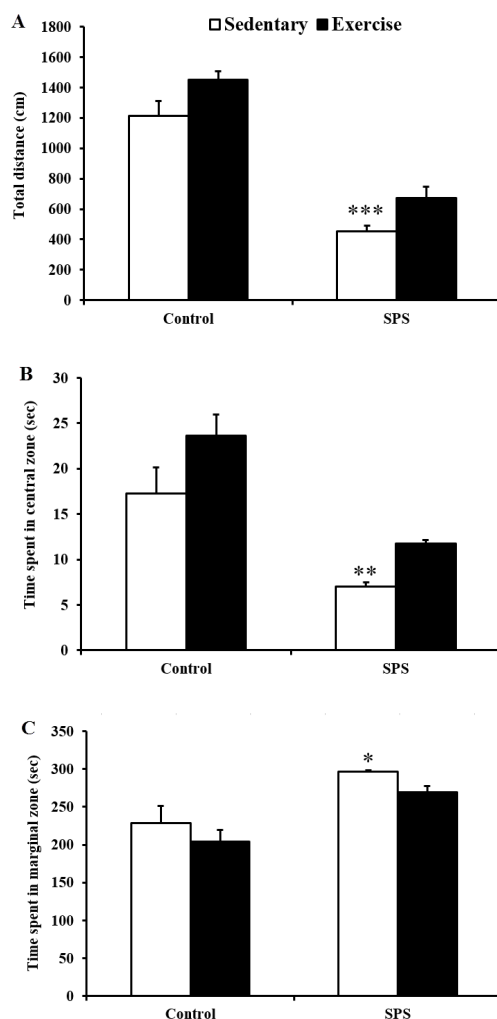
در چهار روزی که Extinction بررسی شد، مدت زمان Freezing (عدم تحرک حیوان به دلیل استرس) نیز اندازه گیری گردید. میانگین زمان Freezing در چهار روز به عنوان Total freezing گزارش شد.

در پایان آزمون های رفتاری، پس از القاء بیهوشی عمیق با ترکیبات کتامین (100 mg/kg) و زایلازین (5 mg/kg)، نمونه خون از قلب حیوانات برای سنجش سطح سرمی IGF-1 تهیه شد. پس از تشکیل لخته، خون به مدت 5 دقیقه با سرعت 4000 دور در دقیقه سانتریفیوژ و سرم حاصله تا زمان سنجش در دمای 20- درجه سانتی گراد نگهداری شد. در ادامه حیوانات قربانی شدند و پس از خارج کردن کامل مغز، جداسازی قشر پره فرونتال برای سنجش BDNF و بررسی مارکرهای مرتبط با آپوپتوز صورت گرفت. نمونه های مغز تا زمان انجام اندازه گیری ها در 20- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از کیت های الایزا و طبق پروتکل شرکت سازنده (Zelbio، آلمان) برای اندازه گیری غلظت سرمی IGF-1 و BDNF قشر پره فرونتال استفاده شد.

اندازه گیری فاکتورهای مرتبط با آپوپتوز با روش Real-time PCR

به منظور بررسی تغییرات بیان ژن های مرتبط با آپوپتوز، بیان ژن های پرو-آپوپتوتیک Bax و

معنی دار مدت زمان حضور در مرکز میدان باز شد ($P=0/004$). ورزش تأثیر معنی داری بر فاکتور فوق نداشت. در مقایسه مدت زمان حضور در محیط میدان باز، آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش $\times$ SPS) و مقایسه بین گروهی نشان داد که استرس منجر به افزایش معنی دار مدت زمان حضور در محیط میدان باز شد ($P=0/013$). ورزش تأثیر معنی داری بر این فاکتور نداشت (نمودار شماره 1).



نمودار شماره 1: مقایسه مسافت طی شده (A)، مدت زمان حضور در مرکز (B) و مدت زمان حضور در محیط (C) جعبه آزمون میدان باز بین گروه‌های مورد مطالعه. SPS: single prolonged stress. $P=0/013$ *نسبت به گروه Control/Sedentary، $P=0/004$ **، $P=0/0001$ ***.

Caspase-3 و آنتی-آپوپتوتیک Bcl-2 در قشر پره‌فرونتال با روش Real-time PCR بررسی شد. به‌طور خلاصه، پس از هموژن کردن نمونه‌های بافتی، RNA تام با استفاده از کیت استخراج RNA (DENA ZIST ASIA, Mashhad, Iran) استخراج شد. سپس از کیت سنتز cDNA (Bioneer inc. Seoul, South Korea) برای ساخت cDNA به روش رونویسی معکوس استفاده شد. cDNA ها تا زمان بررسی بیان ژن‌ها در -20°C نگهداری شدند. پروتکل دمایی براساس مطالعه قبلی انتخاب شد و بیان نسبی هر ژن با ژن مرجع بتا-اکتین نرمالیزه گردید (21). توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره 1 نشان داده شده است.

جدول شماره 1: توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

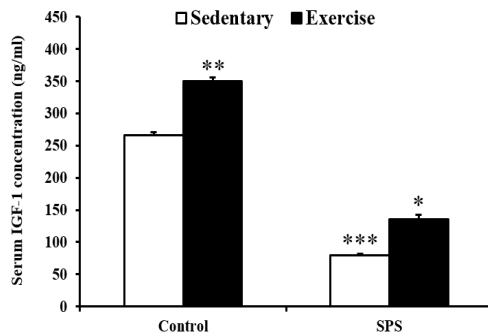
ژن	توالی پرایمر	اندازه محصول (جفت باز)
Bax	For. 5'-GGCTGGACATGGACTTC-3' Rev. 5'-CAGATGGTGAGTGAGGCA-3'	152
Bcl-2	For. 5'-GTGGACAACATCGCTCTG-3' Rev. 5'-AGACAGCCAGGAGAAATCA-3'	141
Caspase	For. 5'-GACAACAACGAAACCTCC-3' Rev. 5'-AGGGTAATCCATTGTGAACCTG-3'	122
β -Actin	For. 5'-GCCTTCCTCTCGGTAT-3' Rev. 5'-GATCTTGATCTTCATGGTGCTA-3'	199

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد نشان داده شدند و $P<0/05$ به‌عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

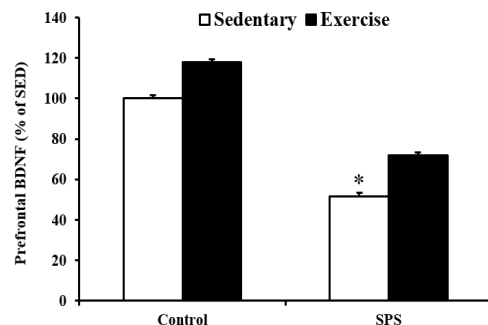
به منظور بررسی تأثیر ورزش با شدت بالا بر رفتارهای اضطرابی، از آزمون میدان باز استفاده شد (نمودار شماره 1). نتایج آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش $\times$ SPS) و مقایسه بین گروهی نشان داد استرس منجر به کاهش معنی دار مسافت طی شده گردید ($P=0/0001$). ورزش تأثیر معنی داری بر کل مسافت طی شده نداشت. در مقایسه مدت زمان حضور در مرکز میدان باز، آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش $\times$ SPS) و مقایسه بین گروهی نشان داد که استرس باعث کاهش

IGF-1 ($P=0/0001$). ورزش منجر به افزایش معنی دار IGF-1 سرم در گروه‌های کنترل ($P=0/025$) و مبتلا به PTSD ($P=0/03$) شد.



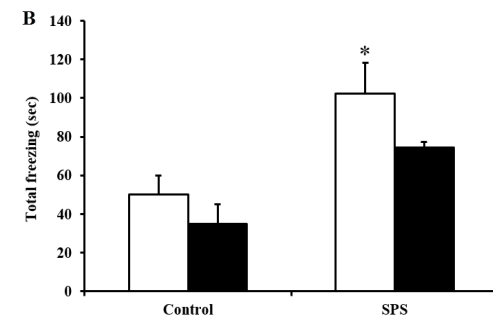
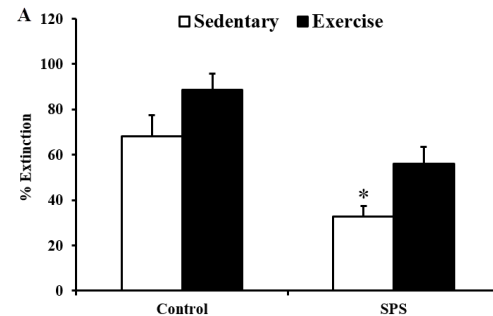
نمودار شماره 3: مقایسه غلظت سرمی فاکتور رشد شبه انسولینی-1 (IGF-1) بین گروه‌های مورد مطالعه SPS: Control/Sedentary نسبت به گروه Control/Sedentary $**P=0/025$ ، $***P=0/0001$ SPS/Sedentary نسبت به گروه Control/Sedentary $*P=0/03$

نتایج حاصل از سنجش میزان BDNF قشر پره‌فرونتال در نمودار شماره 4 نشان داده شده است. در مقایسه میزان BDNF قشر پره‌فرونتال، آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش $\times$ SPS) و مقایسه بین گروهی نشان داد که استرس باعث کاهش معنی دار میزان BDNF قشر پره‌فرونتال شده است ($P=0/0001$). ورزش تأثیر معنی داری بر این فاکتور نداشت.



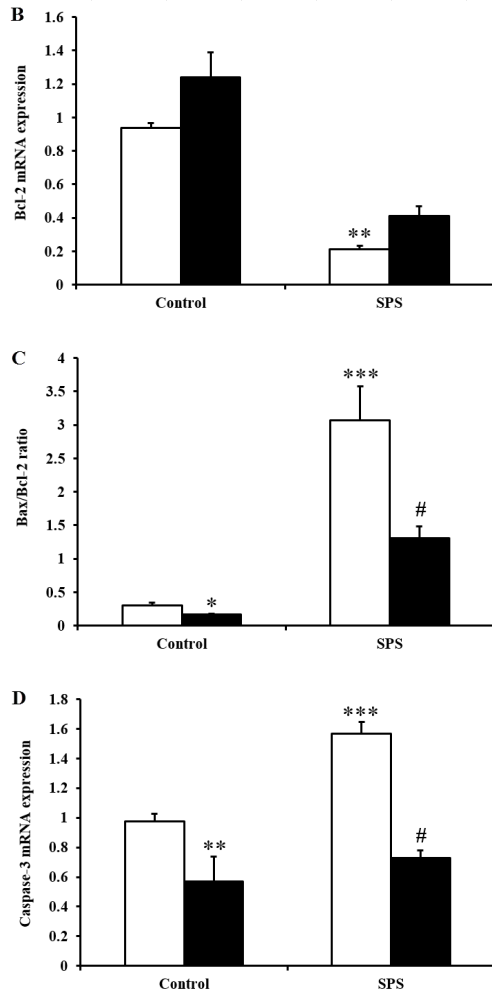
نمودار شماره 4: مقایسه غلظت فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) بین گروه‌های مورد مطالعه SPS: Control/Sedentary نسبت به گروه Control/Sedentary $*P=0/0001$

در مقایسه درصد خاموشی (% Extinction)، آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش $\times$ SPS) و مقایسه بین گروهی نشان داد استرس باعث کاهش معنی دار درصد خاموشی شده است ($P=0/01$). ورزش تأثیر معنی داری در هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه نداشت. در مقایسه Total freezing، آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش $\times$ SPS) نشان‌دهنده اثر معنی دار SPS ($P=0/003$) بود و مقایسه بین گروهی نشان داد که استرس باعث افزایش معنی دار Total freezing شده است ($P=0/01$). ورزش تأثیر معنی داری بر این فاکتور نداشت (نمودار شماره 2).



نمودار شماره 2: مقایسه درصد خاموشی (A) و زمان Total freezing (B) در جعبه آزمون شاتل باکس بین گروه‌های مورد مطالعه. SPS: single prolonged stress Control/Sedentary نسبت به گروه Control/Sedentary $*P=0/01$

نتایج حاصل از سنجش سطح سرمی IGF-1 در نمودار شماره 3 نشان داده شده است. آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش $\times$ SPS) و مقایسه بین گروهی نشان داد که استرس باعث کاهش معنی دار IGF-1 سرم شد



نمودار شماره 5: مقایسه بیان Bax (A)، بیان Bcl-2 (B)، نسبت Bax/Bcl-2 (C) و بیان Caspase-3 (D) در قشر پره فرونتال گروه‌های مورد مطالعه SPS: single prolonged stress

Control/Sedentary $P=0/0001$, $P=0/001$, $P=0/046$ *نسبت به گروه SPS/Sedentary $P=0/0001$, #نسبت به گروه

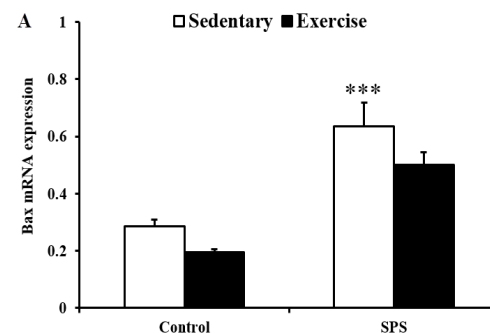
بحث

نتایج این مطالعه نشان داد SPS به عنوان یک روش برای ایجاد مدل حیوانی PTSD قادر است با کاهش IGF-1 سرم و BDNF مغز و القاء آپوپتوز در قشر پره فرونتال منجر به افزایش رفتارهای اضطرابی و همزمان کاهش خاموشی ترس در موش‌های صحرایی نر بالغ شود. اگرچه ورزش اجباری با شدت بالا توانست

نتایج حاصل از تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز در قشر پره فرونتال گروه‌های مورد مطالعه در نمودار شماره 5 نشان داده شده است. در مقایسه بیان ژن فاکتور Bax در قشر پره فرونتال، آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش SPS×) و مقایسه بین گروهی نشان داد که استرس باعث افزایش معنی‌دار بیان Bax شده است ($P=0/001$). ورزش تأثیر معنی‌داری بر بیان Bax نداشت. نتایج آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش SPS×) و مقایسه بین گروهی بر بیان ژن Bcl-2 در قشر پره فرونتال نشان داد که SPS باعث کاهش معنی‌دار بیان Bcl-2 شده است ($P=0/001$). ورزش شدید تأثیر معنی‌داری بر بیان Bcl-2 نداشت.

در مقایسه نسبت Bax/Bcl-2 در قشر پره فرونتال، آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش SPS×) و مقایسه بین گروهی نشان داد که SPS باعث افزایش معنی‌دار نسبت Bax/Bcl-2 شده است ($P=0/0001$). ورزش منجر به کاهش معنی‌دار نسبت Bax/Bcl-2 در گروه‌های کنترل ($P=0/046$) و مبتلا به PTSD ($P=0/0001$) شد.

در مقایسه بیان فاکتور Caspase-3 در قشر پره فرونتال، آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش SPS×) و مقایسه بین گروهی نشان داد که SPS باعث افزایش معنی‌دار بیان Caspase-3 شده است ($P=0/0001$). ورزش منجر به کاهش معنی‌دار بیان Caspase-3 در گروه‌های کنترل ($P=0/002$) و مبتلا به PTSD ($P=0/0001$) شد (نمودار شماره 5).



منجر به بهبود نسبی کلیه اختلالات ناشی از SPS شود، این اثرات تنها در مورد کاهش روند آپوپتوز در قشر پره فرونتال و غلظت سرمی IGF-1 از نظر آماری معنی دار بود.

ظهور علائم اصلی بیماری PTSD با تخریب و دژنره شدن نورون‌ها و افزایش سیتوکاین‌ها و سیگنال‌های التهابی در نواحی هیپوکمپ، آمیگدال و قشر پره فرونتال مرتبط است (22). سطوح بالای نوراپی نفرین و دوپامین در هنگام استرس، با فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ کلسیم و cAMP منجر به باز شدن کانال‌های پتاسیمی و کاهش فعالیت سلول‌های قشر پره فرونتال می‌شود. آتروفی دندریت‌ها و خارهای دندریتی پس از استرس مزمن منجر به تضعیف پایدار مدارهای نورونی در این ناحیه می‌شود (8،7).

در توافق با سایر مطالعات، کاهش مدت زمان حضور در مرکز و افزایش مدت زمان حضور در محیط و کاهش مسافت طی شده در میدان باز از افزایش سطح اضطراب در گروه SPS حکایت داشت (23،24). ورزش با شدت بالا قادر به کاهش معنی دار رفتارهای اضطرابی در گروه‌های مورد مطالعه نبود. مطالعات نشان داده است، استرس حاد و مزمن منجر به افزایش رفتارهای شبه اضطرابی، تجمع گونه‌های واکنشی اکسیژن (Reactive oxygen species: ROS) در هیپوکمپ و قشر پره فرونتال، کاهش IGF-1 و افزایش کورتیکوسترون سرم موش‌های صحرایی می‌گردد (25).

ورزش اثرات سودمندی بر شناخت و سلامت ذهن، بهبود یادگیری و حافظه، افزایش نورون‌زایی و محافظت در مقابل آشفته‌گی‌های روانی مرتبط با استرس مانند اضطراب، افسردگی و اختلال استرس پس از سانحه دارد (26،27). برخی مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات فیزیکی شدید باعث افزایش استرس اکسیداتیو شده و از طریق کنترل هورمون‌های استرس منجر به تغییرات اپی ژنتیک می‌شود (28). با این وجود، مطالعات دیگری نشان دادند ورزش از طریق کاهش استرس اکسیداتیو،

بهبود عملکرد میانجی‌های عصبی مانند سروتونین و نورآدرنالین و BDNF و عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی-آدرنالی (-Hypothalamic-pituitary-adrenal: HPA) به کاهش رفتارهای اضطرابی کمک می‌کند (29،30). در مطالعات حیوانی نظرات متناقضی در مورد تأثیر ورزش بر اضطراب وجود دارد. در حالی که برخی مطالعات کاهش رفتارهای شبه اضطراب را به دنبال ورزش را گزارش کرده‌اند (21،30،31)، نتایج مطالعه‌ای دیگر از اثرات استرس‌زای ورزش حکایت دارد (32). به نظر می‌رسد اثرات ورزش حاد می‌تواند عکس اثرات ورزش مزمن باشد و آسیب بافتی ناشی از استرس اکسیداتیو در لیبیداها و پروتئین‌های مغز به دنبال تمرین شدید می‌تواند در بروز این نتایج متناقض نقش داشته باشد. برنامه‌های ورزشی حاد و با شدت بالا می‌توانند اختلال در جنبه‌های مختلف عملکرد مغز را به دنبال داشته باشند (33). در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثرات تمرین هشت هفته‌ای با شدت بالا در موش‌های صحرایی دیابتی صورت گرفت، کاهش رفتارهای شبه اضطرابی در آزمون‌های ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع شد (34). با این وجود، این برنامه ورزشی نتوانست منجر به بهبود حافظه در موش‌های صحرایی دیابتی شود (35). در مطالعه دیگری که بر روی موش‌های صحرایی نر صورت گرفت، ورزش با شدت بالا تأثیر کم‌تری بر بهبود اضطراب و افسردگی در مقایسه با ورزش با شدت پایین داشت (36). برنامه ورزشی استفاده شده در مطالعه حاضر تنها منجر به کاهش نسبی رفتارهای شبه اضطراب گردید که این تغییرات از نظر آماری معنی دار نبود. احتمالاً مدت زمان هر دوره ورزشی در روز سبب بروز پدیده خستگی و مانع از رسیدن به پاسخ معنی دار شده است.

در مطالعه حاضر، القاء استرس منجر به کاهش خاموشی ترس شد. اگر چه ورزش با شدت بالا منجر به بهبود نسبی خاموشی ترس شد، این تغییر از نظر آماری معنی دار نبود. استرس‌های با منشأ روانی یا جسمی از

طریق آسیب پایدار در مدارهای نورویولوژیک مرتبط با یادگیری و حافظه منجر به ناتوانی در فراموشی خاطرات مرتبط با ترس می‌شوند (37،38). برخلاف ترس شرطی شده، خاموشی توسط یک ناحیه خاص مغز واسطه‌گری نمی‌شود و به پلاستیسیته درون یک شبکه عصبی وابسته است. قشر پره‌فرونتال، هیپوکمپ و خصوصاً آمیگدال در اکتساب، تثبیت و بازخوانی خاموشی ترس شرطی شده نقش دارند (39). همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، افزایش رفتار Freezing موش‌هایی که در معرض SPS قرار گرفته بودند در آزمون ترس شرطی شده مشاهده شده است (40). مواجهه درمانی (Exposure therapy) یک نوع مداخله براساس یادگیری می‌باشد که به عنوان یک روش درمانی برای آشفتگی‌های اضطرابی کاربرد دارد. تست خاموشی ترس در حیوانات از اساس مواجهه درمانی استفاده می‌کند. انعطاف‌پذیری حافظه‌های ترس و مقاومت حافظه‌های خاموشی سبب درمان موفقیت‌آمیز اختلالاتی مانند PTSD می‌گردد. در حالی که اثرات وابسته به طول مدت ورزش نیز اهمیت زیادی دارند، یک دوره ورزش ارادی حین تمرین خاموشی ترس یا بلافاصله پس از آن، امکان فراموشی محرک تروماتیک را افزایش می‌دهد. یک دوره حاد ورزشی در انسان‌ها نیز منجر به افزایش خاموشی ترس می‌شود (41). BDNF نقش مهمی در خاموشی ترس بازی می‌کند و کاهش سطح BDNF در نواحی دخیل در خاموشی ترس منجر به کاهش خاموشی می‌شود. تغییر فعالیت سیستم گلوکوگوریکوید و افزایش گیرنده‌های آن در استرس ایجاد شده در SPS منجر به تغییر سیگنالینگ BDNF و در نتیجه کاهش عملکرد آن می‌شود (42). ورزش هوازی به شکل حاد و مزمن به عنوان یک روش درمانی پیشنهادی غیر دارویی به‌طور چشمگیری از طریق مکانیسم‌های وابسته به BDNF بر فرایندهای یادگیری و حافظه تأثیر می‌گذارد. BDNF باعث افزایش پلاستیسیته سیناپسی و تحریک‌پذیری نورونی شده و تثبیت حافظه خاموشی را میانجیگری می‌کند. هر دو ورزش حاد و مزمن منجر به افزایش

سطح BDNF در انسان‌ها و رت‌ها شده و با افزایش نورون‌زایی منجر به بهبود توانایی‌های یادگیری و شناختی می‌شود. از آن جایی که ورزش منجر به تسهیل یادگیری و حافظه می‌شود، می‌تواند در شکل‌گیری حافظه جدید و خاموشی ترس مؤثر باشد (43). از طرفی نقش IGF-1 به عنوان یک فاکتور نوروتروفیک کلیدی در خاموشی ترس نیز مطرح می‌باشد (44). برنامه ورزشی انتخاب شده در این مطالعه، منجر به افزایش معنی‌دار IGF-1 سرم و افزایش نسبی BDNF در قشر پره‌فرونتال گردید، این اثرات می‌تواند در افزایش نسبی Extinction % و کاهش نسبی Freezing در تست خاموشی ترس نقش داشته باشد (44).

در این مطالعه SPS باعث کاهش سطح IGF-1 سرم شد. هم‌سو با مطالعه حاضر، در استرس مزمن و بیماری‌هایی نظیر افسردگی، اوتیسم و PTSD نیز کاهش میزان IGF-1 در هیپوکمپ و کورتکس مشاهده شده است (45). از سوی دیگر، ورزش‌های مقاومتی و ورزش‌های مزمن با شدت متوسط می‌توانند منجر به افزایش IGF-1 شوند (46). تأثیر مثبت ورزش‌های هوازی با شدت متوسط و بالا بر افزایش سطح IGF-1 سرم و عملکرد شناختی به جنس و نوع و طول مدت ورزش بستگی دارد (17). در توافق با یافته‌های مطالعه حاضر، ورزش منظم متوسط و شدید مقاومتی و استقامتی نیز توانست منجر به افزایش سطح IGF-1 خون شود (47،48). سطح سرمی IGF-1 عاملی مؤثر بر کاهش پاسخ‌های شبه اضطراب از طریق تأثیر بر فعالیت محور HPA می‌باشد (49). در تأیید مطالعه فوق، در مطالعه حاضر نیز تأثیر افزایش معنی‌دار IGF-1 سرم بر کاهش نسبی اضطراب مشاهده شد.

هم‌سو با مطالعات قبلی، در مطالعه حاضر نیز مواجهه با SPS منجر به کاهش سطح BDNF در قشر پره‌فرونتال شد (40،50). افزایش افسردگی و اضطراب ناشی از استرس با کاهش سطح BDNF در نواحی مختلف مغزی مانند هیپوکمپ و قشر پره‌فرونتال مرتبط

خفیف و متوسط کاهش می‌یابد، در حالی که ورزش شدید تاثیر معنی‌داری بر روند آپوپتوز ایجاد شده در این حیوانات ندارد (55).

مطالعه حاضر نشان داد ورزش تردمیل با شدت بالا باعث بهبود تغییرات رفتاری (اضطراب) و مولکولی (IGF-1 و BDNF) و کاهش روند آپوپتوز در قشر پره‌فرونتال به دنبال SPS شد. ورزش با شدت بالا نقش مثبتی در بهبود آسیب‌های ناشی از SPS دارد. با این وجود، طول مدت برنامه ورزشی انتخاب شده مناسب به نظر نمی‌رسد و بهتر است در مطالعات بعدی از این شدت ورزشی در بازه زمانی کوتاه‌تری استفاده شود. بررسی بیان فاکتورهای مرتبط با آپوپتوز در سطح mRNA و در یک ناحیه از مغز از محدودیت‌های مطالعه حاضر به شمار می‌آید. در تحقیقات آینده علاوه بر بررسی نحوه تغییرات در سطح پروتئین و در نواحی دیگر مغز، تغییرات بافتی نیز مطالعه گردد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه‌های مصوب به شماره 6682 متعلق به دانشجوی رشته پزشکی آقای مهدی جهاندار و شماره 6683 متعلق به دانشجوی رشته پزشکی آقای ژوین کلانتری می‌باشد که از محل معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران (مرکز تحقیقات ایمونونوتیک) تأمین اعتبار گردیده است. بدین وسیله از همکاری معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران و مرکز تحقیقات ایمونونوتیک قدردانی می‌گردد.

References

1. Tseilikman V, Komelkova M, Lapshin M, Alliluev A, Tseilikman O, Karpenko M, et al. High and low anxiety phenotypes in a rat model of complex post-traumatic stress disorder are associated with different alterations in regional brain monoamine

است. BDNF با اثر بر عملکرد سیستم سروتونرژیک منجر به تسریع نورون‌زایی و کاهش سطح اضطراب می‌شود (40). ورزش با شدت پایین (زیر آستانه لاکتات) منجر به افزایش بیان mRNA مربوط به BDNF می‌شود، در حالی که ورزش با شدت بالا (فوق آستانه لاکتات) که منجر به افزایش لاکتات و کورتیزول خون می‌شود، کاهش BDNF را به دنبال دارد (51). افزایش سطح BDNF در ناحیه هیپوکمپ موش‌های صحرایی به دنبال ورزش شدید و متوسط گزارش شده است (52). در این مطالعه افزایش نسبی BDNF قشر پره‌فرونتال به دنبال ورزش شدید مشاهده شد، اما این افزایش معنی‌دار نبود. القاء SPS منجر به افزایش بیان فاکتورهای Bax و Caspase-3 و کاهش بیان Bcl-2 در قشر پره‌فرونتال شد و ورزش با شدت بالا توانست منجر به کاهش معنی‌دار روند آپوپتوز شود. همسو با مطالعه حاضر، در مطالعه‌ای دیگر نیز فعال شدن آپوپتوز در آمیگدال، هیپوکمپ و قشر پره‌فرونتال به دنبال القاء SPS گزارش شده است (23). تأثیر مثبت ورزش با شدت متوسط و شدید بر کاهش روند آپوپتوز در ناحیه هیپوکمپ رت‌ها گزارش شده است. هر دو نوع ورزش با افزایش سطح فاکتور رشد عصبی (Nerve growth factor: NGF) منجر به کاهش آپوپتوز در هیپوکمپ می‌شوند (53). فاکتور رشد عصبی با فعال کردن مسیر برداشت رادیکال‌های آزاد باعث کاهش سطح ROS ها شده و نقش مهمی در ترمیم و محافظت بافت عصبی بازی می‌کند (54). ملک‌لو و همکاران (2022) نشان دادند، آپوپتوز ناشی از تزریق مورفین به داخل هیپوکمپ به دنبال ورزش‌های با شدت

neurotransmission. *Psychoneuroendocrinology* 2020; 117: 104691.

2. Meiser-Stedman R, McKinnon A, Dixon C, Boyle A, Smith P, Dalgleish T. A core role for cognitive processes in the acute onset and maintenance of post-traumatic stress in

- children and adolescents. *J Child Psychol Psychiatry* 2019; 60(8): 875-884.
3. Lee B, Choi GM, Sur B. Silibinin prevents depression-like behaviors in a single prolonged stress rat model: the possible role of serotonin. *BMC Complement Med Ther* 2020; 20: 70.
 4. Mahan AL, Ressler KJ. Fear conditioning, synaptic plasticity and the amygdala: implications for posttraumatic stress disorder. *Trends Neurosci* 2012; 35(1): 24-35.
 5. Vancampfort D, Richards J, Stubbs B, Akello G, Gbiri CA, Ward PB, et al. Physical activity in people with posttraumatic stress disorder: A systematic review of correlates. *J Phys Act Health* 2016; 13(8): 910-918.
 6. Wang R, Holsinger RD. Exercise-induced brain-derived neurotrophic factor expression: therapeutic implications for Alzheimer's dementia. *Ageing Res Rev* 2018;48:109-121.
 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. Eadie BD, Redila VA, Christie BR. Voluntary exercise alters the cytoarchitecture of the adult dentate gyrus by increasing cellular proliferation, dendritic complexity, and spine density. *J Comp Neurol* 2005; 486(1): 39-47.
 9. Anderson EH, Shivakumar G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. *Front Psychiatry* 2013; 4: 27.
 10. Voss MW, Nagamatsu LS, Liu-Ambrose T, Kramer AF. Exercise, brain, and cognition across the life span. *J Appl Physiol* (1985) 2011; 111(5): 1505-1513.
 11. 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.
 12. Shafia S, Nikkhah F, Akhoundzadeh K. Effect of combination fluoxetine and exercise on prefrontal BDNF, anxiety-like behavior and fear extinction in a female rat model of post-traumatic stress disorder (PTSD): a comparison with male animals. *Behav Brain Funct* 2023; 19(1): 1.
 13. Mueller PL, Pritchett CE, Wiechman TN, Zharikov A, Hajnal A. Antidepressant-like effects of insulin and IGF-1 are mediated by IGF-1 receptors in the brain. *Brain Res Bull* 2018; 143: 27-35.
 14. Levada OA, Troyan AS. Insulin-like growth factor-1: a possible marker for emotional and cognitive disturbances, and treatment effectiveness in major depressive disorder. *Ann Gen Psychiatry* 2017; 16(1): 38.
 15. Rabiee A, Krüger M, Ardenkjær-Larsen J, Kahn CR, Emanuelli B. Distinct signalling properties of insulin receptor substrate (IRS)-1 and IRS-2 in mediating insulin/IGF-1 action. *Cell Signal* 2018;47:1-15.
 16. Bondy CA, LEE WH. Patterns of insulin-like growth factor and IGF receptor gene expression in the brain: functional implications. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 692(1): 33-43.
 17. Stein AM, Silva TMV, Coelho FGdM, Arantes FJ, Costa JLR, Teodoro E, et al. Physical exercise, IGF-1 and cognition A systematic review of experimental studies in the elderly. *Dement Neuropsychol* 2018; 12(2): 114-122.
 18. Alani B, Maghsoudi N, Khatibi A, Nouredini M, Asefifar F, Shams J. Study of the variations in apoptotic factors in

- hippocampus of male rats with posttraumatic stress disorder. *Adv Biomed Res* 2013; 2: 42.
19. Collins B, Biddle M, Wood DR, Boyapati S, Barth M, Jeun C, et al. The role of avoidance in modulating single prolonged stress effects on emotional memory in male and female rats. *Behav Brain Res* 2023; 452: 114579.
 20. Ahmadi Veshki M, Mohammadi M, Seyedpour P. Effects of Moderate Treadmill Exercise on Anxiety and Serum Corticosterone and IGF-1 Levels in A Rat Model of Post-Traumatic Stress Disorder. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2022; 31(205): 1-16 (Persian).
 21. 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.
 22. Michopoulos V, Powers A, Gillespie CF, Ressler KJ, Jovanovic T. Inflammation in Fear- and Anxiety-Based Disorders: PTSD, GAD, and Beyond. *Neuropsychopharmacology* 2017; 42(1): 254-270.
 23. Tong L, Li M-D, Nie P-Y, Chen Y, Chen Y-L, Ji L-L. miR-132 downregulation alleviates behavioral impairment of rats exposed to single prolonged stress, reduces the level of apoptosis in PFC, and upregulates the expression of MeCP2 and BDNF. *Neurobiol Stress* 2021; 14: 100311.
 24. Yin J-B, Liu H-X, Shi W, Ding T, Hu H-Q, Guo H-W, et al. Various BDNF administrations attenuate SPS-induced anxiety-like behaviors. *Neurobiol Stress* 2022; 788: 136851.
 25. Miller MW, Sadeh N. Traumatic stress, oxidative stress and post-traumatic stress disorder: neurodegeneration and the accelerated-aging hypothesis. *Mol Psychiatry* 2014; 19(11): 1156-1162.
 26. Vanderheyden WM, Kehoe M, Vanini G, Britton SL, Koch LG. Rat models for low and high adaptive response to exercise differ for stress-related memory and anxiety. *Physiol Rep* 2021; 9(4): e14716.
 27. Chekroud SR, Gueorguieva R, Zheutlin AB, Paulus M, Krumholz HM, Krystal JH, et al. Association between physical exercise and mental health in 1·2 million individuals in the USA between 2011 and 2015: a cross-sectional study. *lancet Psychiatry* 2018; 5(9): 739-746.
 28. Kawamura T, Muraoka I. Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint. *Antioxidants* 2018;7(9):119.
 29. Illesca-Matus R, Ardiles NM, Munoz F, Moya PR. Implications of Physical Exercise on Episodic Memory and Anxiety: The Role of the Serotonergic System. *Int J Mol Sci* 2023; 24(14): 11372.
 30. Salim S, Sarraj N, Taneja M, Saha K, Tejada-Simon MV, Chugh G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behav Brain Res* 2010; 208(2): 545-552.
 31. Mohammadi M, Zare Z. Effects of treadmill exercise on cognitive functions and anxiety-related behaviors in ovariectomized diabetic rats. *Physiol Behav* 2020; 224: 113021.
 32. Cacciaglia R, Krause-Utz A, Vogt MA, Schmahl C, Flor H, Gass P. Voluntary exercise does not ameliorate context memory and hyperarousal in a mouse model for post-

- traumatic stress disorder (PTSD). *World J Biol Psychiatry* 2013; 14(5): 403-409.
33. Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev* 2008;7(1):34-42.
 34. Borrega-Mouquinho Y, Sánchez-Gómez J, Fuentes-García JP, Collado-Mateo D, Villafaina S. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity training on stress, depression, anxiety, and resilience in healthy adults during coronavirus disease 2019 confinement: a randomized controlled trial. *Front Psychol* 2021; 12: 643069.
 35. Orumiyehi A, Khoramipour K, Rezaei MH, Madadzadeh E, Meymandi MS, Mohammadi F, et al. High-intensity interval training-induced hippocampal molecular changes associated with improvement in anxiety-like behavior but not cognitive function in rats with type 2 diabetes. *Brain Sci* 2022; 12(10): 1280.
 36. Otsuka T, Nishii A, Amemiya S, Kubota N, Nishijima T, Kita I. Effects of acute treadmill running at different intensities on activities of serotonin and corticotropin-releasing factor neurons, and anxiety-and depressive-like behaviors in rats. *Behav Brain Res* 2016; 298(ptB): 44-51.
 37. Garfinkel SN, Abelson JL, King AP, Sripada RK, Wang X, Gaines LM, et al. Impaired contextual modulation of memories in PTSD: an fMRI and psychophysiological study of extinction retention and fear renewal. *J Neurosci* 2014; 34(40): 13435-13443.
 38. Kurilova E, Sidorova M, Tuchina O. Single Prolonged Stress Decreases the Level of Adult Hippocampal Neurogenesis in C57BL/6, but Not in House Mice. *Curr Issues Mol Biol* 2023; 45(1): 524-537.
 39. Orsini CA, Maren S. Neural and cellular mechanisms of fear and extinction memory formation. *Neurosci Biobehav Rev* 2012; 36(7): 1773-1802.
 40. Chang S-H, Yu YH, He A, Ou CY, Shyu BC, Huang ACW. BDNF protein and BDNF mRNA expression of the medial prefrontal cortex, amygdala, and hippocampus during situational reminder in the PTSD animal model. *Behav Neurol* 2021; 2021: 1-13.
 41. Moya NA, Tanner MK, Smith AM, Balolia A, Davis JK, Bonar K, et al. Acute exercise enhances fear extinction through a mechanism involving central mTOR signaling. *Neurobiol Learn Mem* 2020; 176: 107328.
 42. Kataoka T, Fuchikami M, Nojima S, Nagashima N, Araki M, Omura J, et al. Combined brain-derived neurotrophic factor with extinction training alleviate impaired fear extinction in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Genes Brain Behav* 2019; 18(7): e12520.
 43. Jacquart J, Roquet RF, Papini S, Powers MB, Rosenfield D, Smits JA, et al. Effects of acute exercise on fear extinction in rats and exposure therapy in humans: null findings from five experiments. *J Anxiety Disord* 2017; 50: 76-86.
 44. Maglio LE, Noriega-Prieto JA, Maroto IB, Martin-Cortecero J, Muñoz-Callejas A, Callejo-Móstoles M, et al. IGF-1 facilitates extinction of conditioned fear. *Elife* 2021; 10: e67267.
 45. Zegarra-Valdivia JA. Insulin-like growth factor type 1 and its relation with neuropsychiatric disorders. *Medwave* 2017; 17(7): e7031.
 46. Sundari LPR, Ar NLKA. Regular Physical Exercise Increase of Growth Hormone (GH) and Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1)

- Activity in Elderly Improve the Aging Process and Quality of Life: A Mini Review. *Biomed Pharmacol J* 2022; 15(2): 883-890.
47. Uysal N, Agilkaya S, Sisman AR, Camsari UM, Gencoglu C, Dayi A, et al. Exercise increases leptin levels correlated with IGF-1 in hippocampus and prefrontal cortex of adolescent male and female rats. *J Chem Neuroanat* 2017; 81: 27-33.
 48. Shanazari Z, Faramarzi M, Banitalebi E, Hemmati R. Effect of moderate and high-intensity endurance and resistance training on serum concentrations of MSTN and IGF-1 in old male Wistar rats. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2019; 38(2): 20180066.
 49. Baldini S, Restani L, Baroncelli L, Coltelli M, Franco R, Cenni MC, et al. Enriched early life experiences reduce adult anxiety-like behavior in rats: a role for insulin-like growth factor 1. *J Neurosci* 2013; 33(28): 11715-11723.
 50. Zhao M, Wang W, Jiang Z, Zhu Z, Liu D, Pan F. Long-term effect of post-traumatic stress in adolescence on dendrite development and H3K9me2/BDNF expression in male rat hippocampus and prefrontal cortex. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 682.
 51. Okamoto M, Mizuuchi D, Omura K, Lee M, Oharazawa A, Yook JS, et al. High-intensity intermittent training enhances spatial memory and hippocampal neurogenesis associated with BDNF signaling in rats. *Cereb Cortex* 2021; 31(9): 4386-4397.
 52. Soori Z, Heyrani A, Souri R. Comparison of the effects of exercise intensity on learning, spatial memory and anxiety behaviors in rats with motion impairment. *Journal of Sports and Motor Development and Learning*. 2018; 9(4): 667-682 (Persian).
 53. Bonanni R, Cariati I, Tarantino U, D'Arcangelo G, Tancredi V. Physical exercise and health: a focus on its protective role in neurodegenerative diseases. *J Funct Morphol Kinesiol* 2022; 7(2): 38.
 54. Chae C-H, Kim H-T. Forced, moderate-intensity treadmill exercise suppresses apoptosis by increasing the level of NGF and stimulating phosphatidylinositol 3-kinase signaling in the hippocampus of induced aging rats. *Neurochem Int* 2009; 55(4): 208-213.
 55. Malekloo R, Nematollahi S, Vafaei AA, Rashidy-Pour A. Effects of different intensities of treadmill exercise on cued fear extinction failure, hippocampal BDNF decline, and Bax/Bcl-2 ratio alteration in chronic-morphine treated male rats. *Behav Brain Res* 2022; 421: 113732.