

Effects of Physical Activity on Cognitive Function and Neuroplasticity in SPS Rats: Hippocampal Changes and BDNF Level

Sakineh Shafia¹

Mehrzaad Mardani²

Mansoorah Mirzaee³

Fereshteh Talebpour Amiri⁴

¹ Associated Professor, Department of Physiology, Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

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

³ PhD in Comparative Histology, Department of Anatomy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Professor, Department of Anatomy, Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 5, 2024 ; Accepted August 13, 2024)

Abstract

Background and Purpose: Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a type of psychotic illness that can occur after traumatic events such as war, childhood abuse, rape, natural disasters like earthquakes, and other unfortunate life events. These stresses can damage different brain areas, leading to behavioral changes associated with these regions. Chronic stress increases the activity of microglial cells, resulting in the loss of dendritic spines in the medial prefrontal cortex and hippocampus. Additionally, memory formation is impaired after stress exposure, leading to the inability to replace new memories with previous disturbing ones. The pathophysiology of PTSD involves changes in specific anatomical regions and circuits of the brain. Damage to the prefrontal cortex (PFC) can hinder the ability to forget inappropriate and disturbing memories. The PFC plays a crucial role in the brain's physiological response, providing the necessary functions to create calm, rational, and flexible responses. Studies have shown that acute stress weakens the prefrontal cortex. Medications for psychotic disorders have side effects, and there is a risk of relapse in some patients. Finding new treatment methods with greater benefits and minimal side effects is essential. Exercise, as an adjunctive treatment, may improve the structural and functional changes caused by stress.

Materials and Methods: In this experiment, Wistar male laboratory rats and a single prolonged stress animal model were used as valid models for PTSD induction. Following a 4-week exercise intervention on a treadmill (forced exercise at moderate intensity) — the first two weeks at a speed of 10 m/min for half an hour a day and the second two weeks at a speed of 15 m/min for half an hour a day, 5 days per week — cognitive memory and fear extinction were evaluated using behavioral tests (ORMT and Extinction). The animals were then euthanized under deep anesthesia with ketamine and xylazine. The brains were removed, and the hippocampus was fixed for histological studies using the Golgi staining method. The prefrontal cortex was also frozen at -80°C for BDNF measurement.

Results: The results of this study showed that rats suffering from PTSD exhibited a decrease in fear extinction (the ability to forget disturbing memories), an increase in freezing behavior, a reduction in cognitive memory, a decrease in BDNF levels in the prefrontal cortex, and a reduction in dendritic branches. The selected exercise program significantly improved behavioral deficits (cognitive memory and fear extinction) and reduced freezing behavior as a measure of fear. Additionally, BDNF levels in the prefrontal cortex increased, and a relative increase in dendritic branches in the hippocampus was observed after the exercise protocol.

Conclusion: A regular 4-week course of moderate-intensity exercise can improve the structural and functional damage caused by stress in an animal model of PTSD, particularly in the hippocampus and prefrontal cortex, as well as ameliorate deficits in cognitive memory and reduce fear responses.

Keywords: Post-traumatic stress disorder, cognitive memory, fear extinction, Golgi staining, brain-derived neurotrophic factor

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (236): 14-28 (Persian).

Corresponding Author: Fereshteh Talebpour Amiri - Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: ftaleb2001@yahoo.co.uk)

بررسی تاثیر فعاليت فيزيكي بر عملکرد شناختي و تغييرات ساختاري در هيپوكمپ و ميزان BDNF در قشر پره فرونتال در موش‌هاي بزرگ آزمايشگاهي SPS

سکینه شفیعا^۱
مهرزاد مردانی^۲
منصوره میرزایی^۳
فرشته طالب پور امیری^۴

چکیده

سابقه و هدف: عارضه استرس پس از تروما (PTSD) نوعی بیماری روانپزشکی است که به دنبال جنگ، آزار و اذیت‌های دوران کودکی، تجاوز، حوادث و بلایای طبیعی چون زلزله، و سایر حوادث ناگوار زندگی به وجود می‌آید. این استرس‌ها می‌توانند باعث آسیب نواحی مختلف مغزی و در نتیجه رفتارهای مرتبط با این نواحی شوند. استرس مزمن منجر به تشدید فعالیت سلول‌های میکروگلیا و در نتیجه از دست دادن خارهای دندریتی در قشر پره فرونتال میانی و هیپوکمپ می‌شود. هم‌چنین تخریب شکل‌گیری حافظه به دنبال مواجهه با استرس مشاهده می‌گردد، لذا ناتوانی در جایگزینی خاطرات جدید به جای خاطرات آزار دهنده قبلی به وجود می‌آید. پاتوفیزیولوژی PTSD شامل تغییرات در مناطق و مدارهای آناتومیک خاص مغز است. آسیب به قشر جلوی مغز (PFC) می‌تواند مانع از فراموشی خاطرات نامناسب و آزار دهنده شود. PFC نقش مهمی در پاسخ‌های فیزیولوژیک مغز ایفا کرده و عملکرد لازم برای ایجاد پاسخ‌های آرام، منطقی و انعطاف‌پذیر را فراهم می‌کند. مطالعات نشان داده است که استرس حاد باعث تضعیف قشر پره فرونتال می‌شود. داروهای مرتبط با بیماری‌های روانپزشکی دارای اثرات جانبی می‌باشند و احتمال برگشت بیماری در برخی از بیماران وجود دارد پیدا کردن راه‌های درمانی جدید با سودمندی بیش‌تر و کم‌ترین اثرات جانبی از اهمیت بسیار برخوردار است. ورزش به عنوان یک روش درمانی کمکی قادر به بهبود تغییرات ساختمانی و عملکردی ایجاد شده به وسیله استرس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این آزمایش از موش‌های نر آزمایشگاهی نژاد ویستار و مدل حیوانی single prolonged stress به عنوان به مدل معتبر برای القای PTSD استفاده شد. پس از انجام مداخله ورزشی با تردمیل به مدت ۴ هفته (ورزش اجباری با شدت متوسط) (دو هفته اول با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت نیم ساعت در روز و دو هفته دوم با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت نیم ساعت در روز و ۵ روز در هفته)، حافظه شناختی و خاموشی ترس به وسیله تست‌های رفتاری (Extinction و ORMT) مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس حیوانات تحت بیهوشی عمیق با کتامین و زایلانین و با استفاده از بی‌دردی کشته و مغزها خارج شده و هیپوکمپ جهت انجام مطالعات بافتی به روش رنگ‌آمیزی گلژی فیکس شد. قشر پره فرونتال نیز جهت اندازه‌گیری BDNF در ۸۰-درجه فریز گردید.

یافته‌ها: نتایج این بررسی نشان داد رت‌های مبتلا به PTSD کاهش خاموشی ترس به عنوان یک توانایی برای فراموشی خاطرات آزار دهنده و افزایش فریزینگ و کاهش حافظه شناختی و هم‌چنین کاهش میزان BDNF در قشر پره فرونتال و کاهش انشعابات دندریتی را نشان می‌دهند. برنامه ورزشی انتخاب شده قادر به بهبود معنی‌دار آسیب‌های رفتاری ایجاد شده (حافظه‌شناختی و خاموشی ترس و هم‌چنین کاهش رفتار فریزینگ به عنوان معیاری از ترس) و افزایش سطح BDNF در قشر پره فرونتال بود. هم‌چنین افزایش نسبی انشعابات دندریتی در هیپوکمپ پس از این پروتکول ورزشی مشاهده شد.

استنتاج: تاثیر یک دوره منظم ۴ هفته‌ای از ورزش با شدت متوسط قادر است آسیب‌های ناشی از استرس اعمال شده توسط یک مدل حیوانی PTSD را بر ساختمان بافتی و عملکرد نواحی هیپوکمپ و قشر پره فرونتال بهبود ببخشد و آسیب‌های وارده به حافظه شناختی و خاموشی ترس را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: عارضه استرس پس از تروما، حافظه شناختی، خاموشی ترس، رنگ‌آمیزی گلژی، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز

E-mail: ftaleb2001@yahoo.co.uk

مؤلف مسئول: فرشته طالب پور - ساری، کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

۱. دانشیار، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات ایمونونیک، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دکترای بافت شناسی مقایسه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استاد، گروه علوم تشریح، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۳/۱۲ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۵/۲۳

مقدمه

عارضه استرس پس از تروما (PTSD) نوعی نشانگان پیچیده از دسته بیماری‌های روانپزشکی است که به دنبال جنگ، حوادث و بلایای طبیعی چون زلزله، آزار و اذیت‌های دوران کودکی، تجاوز و سایر حوادث ناگوار زندگی به وجود می‌آید (۱). شیوع PTSD بین ۱ تا ۵ درصد می‌باشد و در جمعیت عمومی در حال افزایش است، به ویژه در جوامعی که درگیر جنگ‌ها و بلایای طبیعی می‌باشند (۲). احتمالاً افرادی با زمینه ژنتیکی آسیب‌پذیر، ریسک بیش‌تری برای ابتلا به PTSD را پس از تجربه یک حادثه تروماتیک دارند (۳). علائم بالینی شامل خاطرات آسیب‌زای مکرر و مزاحم، اجتناب از محرک‌های مربوط به رویدادهای تروماتیک، اختلال شناختی، احساسات منفی، برانگیختگی بیش از حد، هوشیاری بیش از حد، پریشانی بالینی و اختلال اجتماعی است (۴). وجود و شدت علائم PTSD با ناهنجاری‌های ساختاری ماده خاکستری و سفید در لوب‌های تمپورال میانی و نواحی فرونتوپریتال مرتبط است که زیربنای عملکرد اجرایی و حافظه اپیزودیک است. تغییرات ماده خاکستری مرتبط با PTSD شامل کاهش حجم در هیپوکامپ و سینگولیت قدامی و قشر پره فرونتال می‌باشد (۵). این تغییرات ساختاری همزمان با تغییرات عملکردی مغز در PTSD رخ می‌دهد و اختلال در رشد دندریت و سیناپتوزنیز به عنوان یک عامل کلیدی در بیماری تایید شده است (۶، ۷). در این بیماران، فعالیت آمیگدال غیرطبیعی است که پیامد آن افزایش پاسخ‌های استرسی و تقویت حافظه‌های هیجانی است و حجم و عملکرد ناحیه هیپوکامپ به علت اثرات مزمن گلوکوکورتیکوئیدها کاهش می‌یابد. کاهش حجم هیپوکامپ، یک عامل خطر مهم خانوادگی در ایجاد بیماری است و همراه با اختلال در حافظه فضایی، حافظه کاری و نیز حافظه اخباری می‌باشد (۸). قشر جلوی پیشانی نقش مهمی در پردازش حافظه، تصمیم‌گیری، شناخت، طرح‌ریزی و سازمان‌بندی رفتارهای موجود زنده بازی می‌کند. این

ناحیه با آمیگدال تعامل گسترده‌ای داشته، باعث مهار پاسخ‌های هیجانی و شناختی غیر مناسب ایجاد شده توسط آمیگدال می‌گردد. در این بیماری فعالیت نواحی هیپوکامپ و PFC مختل می‌شود که این احتمالاً، سبب کاهش کنترل بر فعالیت آمیگدال می‌گردد. پیامد این کاهش کنترل پاسخ‌دهی شدید به محرک‌های ترسناک می‌باشد. عملکرد غیرطبیعی در روند پاک شدن حافظه ترس، نقش مهمی در پیشرفت علائم بالینی این بیماری مانند تجربه مجدد تروما دارد. پاتوفیزیولوژی PTSD شامل تغییرات در مناطق و مدارهای آناتومیک خاص مغز است (۹). آسیب به قشر جلوی مغز (PFC) می‌تواند مانع از فراموشی خاطرات نامناسب و آزار دهنده شود (۱۰). PFC عملکرد لازم برای ایجاد پاسخ‌های آرام، منطقی و انعطاف‌پذیر را فراهم می‌کند (۱۱). مطالعات نشان داده است که استرس حاد باعث تضعیف قشر پیشانی پشتی جانبی (dlPFC) می‌شود (۱۲). مطالعات حیوانی نشان داده است که قرار گرفتن در معرض استرس طولانی مدت منجر به از بین رفتن دندریت‌ها و خارهای دندریتی در PFC می‌شود. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که مدارهای بازدارنده در PFC، از جمله سلول‌های عصبی GABAergic، در حافظه ترس و اختلالات مربوط به ترس نقش دارند و آسیب به PFC روند فراموشی ترس را مختل می‌کند (۱۳، ۱۴).

نوروتروفین‌ها گروهی از فاکتورهای رشد عصبی هستند که نقش مهمی در فیزیولوژی، پیشرفت و پاتولوژی بیماری‌های روانی دارند. BDNF به عنوان یک فاکتور نوروتروفیک، در برخی از بافت‌ها و سلول‌ها مانند مغز، شبکه، پروستات، نورون‌های حرکتی و ماهیچه‌های اسکلتی بیان می‌شود. در سال‌های اخیر، نقش BDNF تعدادی از اختلالات روانی، مانند افسردگی، اضطراب، اختلال در خوردن و بیماری استرس پس از سانحه، مورد بررسی قرار گرفته است (۱۵). BDNF مسئول کنترل بقای نورونی، تمایز در رشد و تشکیل سیناپس در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی است و به مقدار زیادی پاسخ

به استرس را کنترل می‌کند (۱۶). استرس طولانی مدت یا افزایش مداوم گلوکوکورتیکوئیدهای در گردش می‌تواند منجر به آتروفی دندریتی در هیپوکامپ، توقف شکل‌پذیری سیناپسی و کاهش نورونز شود (۱۷). توقف انعطاف‌پذیری، از جمله انقباض دندریتیک در پاسخ به استرس، توسط افزایش سطح گلو تامات در هیپوکامپ ایجاد می‌شود که منجر به جریان کلسیم به سمت داخل در محل پس سیناپسی می‌گردد (۱۸). در افراد مبتلا به PTSD، کاهش عملکرد شناختی مشاهده می‌شود. این شامل نقص در حافظه اپیزودیک، سرعت پردازش اطلاعات، توجه و عملکرد اجرایی است (۱۹). استرس مزمن با فعال کردن بیش از حد گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی در هیپوکامپ تحریک سلول‌های عصبی را مهار کرده و منجر به مشکلات در شکل‌گیری و بازیابی خاطرات می‌شود (۲۰). استرس مزمن باعث کوچک شدن اندازه هیپوکامپ شده و بر سرعت اضافه یا کم شدن نورون‌ها در هیپوکامپ تأثیر می‌گذارد. این تغییرات می‌تواند منجر به کاهش انعطاف‌پذیری و کاهش کارایی پردازش اطلاعات توسط هیپوکامپ شود.

مجموعه‌ای از 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 نورون زایی در هیپوکامپ، افزایش شکل‌پذیری سیناپس‌ها و نیز افزایش رها سازی فاکتورهای رشد اعمال می‌گردد. ورزش هم‌چنین شکل نورون‌ها را تغییر می‌دهد. برای مثال مشاهده شده است که ورزش طول و تراکم خارهای دندریتی را افزایش می‌دهد. دامنه وسیعی از تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک به دنبال ورزش رخ می‌دهد که بعضی از این تغییرات نقش مهمی در عملکرد و ساختار مغز دارد (۲۱). مکانیسم‌های مولکولی و سلولی دخیل در اثر ورزش بر مغز، تا اندازه‌ای شناخته شده‌اند. مطالعات نشان داده است که این مولکول‌ها، نقش مهمی در فعالیت‌های مغزی از قبیل یادگیری و

حافظه دارند (۲۱). برخی از داروهای ضد اضطراب می‌توانند با تغییر در تحریک‌پذیری و انعطاف‌پذیری نورون‌های هیپوکامپ، اضطراب را درمان کنند (۲۰). درمان سنتی PTSD شامل روان درمانی و دارو درمانی است. با این حال، بسیاری از کسانی که از اختلال استرس پس از سانحه رنج می‌برند، دسترسی محدودی به این روش‌های درمانی دارند (۲۲). فعالیت بدنی و ورزش به عنوان درمان‌های کمکی پیشنهادی برای PTSD مورد توجه قرار گرفته است. فعالیت بدنی می‌تواند به شکل پیاده‌روی، دوچرخه‌سواری، ورزش، فعالیت‌های خانگی یا شغلی باشد و می‌تواند در میزان مصرف انرژی بسیار متفاوت باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که فعالیت بدنی یک درمان مؤثر برای افسردگی، اضطراب و اسکیزوفرنی از طریق مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و روان‌شناختی است و ممکن است قابل مقایسه با سایر درمان‌های رایج مانند روان درمانی و دارو درمانی باشد (۲۳). اثرات مفید ورزش با شدت متوسط بر فاکتورهای نوروتروفیک و عملکرد شناختی نشان داده شده است (۲۴). افزایش حجم هیپوکامپ، به دنبال ورزش هوازی، با افزایش سطوح سرمی BDNF مرتبط است (۲۵).

اثرات جانبی داروهای مرتبط با بیماری‌های روان پریشی مشاهده شده است و هم‌چنین بخشی از این بیماران (۲۰-۳۰ درصد) حتی پس از بهبودی نسبی بعد از مدتی در صورت مواجهه با عوامل تروماتیک مشابه، مجدد علائم عود را نشان می‌دهند، بنابراین پیدا کردن راه‌های درمانی جدید که علاوه بر داشتن سودمندی بیش‌تر کم‌ترین اثرات جانبی را داشته باشند از اهمیت بسیار برخوردار است. در استفاده از ورزش ترمیم (اجباری) رت‌ها مدت زمان مشخصی را با سرعت معین ورزش کرده و بنابراین به راحتی تأثیر این شدت خاص ورزشی با استفاده از تست‌های رفتاری و مولکولی قابل ارزیابی می‌باشد. با توجه به این که منشا کلیه آسیب‌های رفتاری در این بیماری، آسیب‌های ساختاری در نواحی خاصی از مغز می‌باشد، در این مطالعه به بررسی آسیب

ناحیه هیپوکمپی و تأثیر آن بر شکل‌گیری حافظه‌شناختی از طریق مطالعه بافتی و همچنین آسیب قشر پره فرونتال و تأثیر آن بر خاموشی ترس از طریق اندازه‌گیری فاکتور نوروتروفیک پرداخته شد. هدف این مطالعه شناسایی یک روش درمانی کمکی کم‌هزینه و با کم‌ترین اثرات جانبی در درمان آسیب‌های ناشی از استرس در یک مدل حیوانی PTSD می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش موش‌های نر آزمایشگاهی نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت (به تعداد ۳۲ حیوان) در هر گروه ۸ حیوان قرار داده شد. موش‌ها در درجه حرارت محیط حدود 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد با دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی مازندران نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش نیز آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار گرفت. پس از انجام مداخله ورزشی و ارزیابی حافظه شناختی و خاموشی ترس، حیوانات تحت بیهوشی عمیق با کتامین و زایلازین و با استفاده از داروی بی‌دردی کشته و مغزها خارج شد و هیپوکمپی جهت انجام مطالعات بافتی به بخش بافت‌شناسی علوم پزشکی مازندران منتقل شد. قشر پره فرونتال نیز جهت اندازه‌گیری BDNF در ۸۰ - درجه فریز گردید.

گروه‌های آزمایش

موش‌ها به دو گروه Control و SPS و هر گروه به دو زیر گروه تقسیم شدند. گروه Control که شامل رات‌هایی است که در معرض SPS قرار نمی‌گیرند، به دو زیر گروه، گروه ورزشی (به مدت ۴ هفته، هفته‌ای ۵ روز) و گروه کنترل هیچ مداخله‌ای صورت نمی‌گیرد و گروه SPS که شامل رات‌هایی است که در معرض SPS قرار می‌گیرند، ۱۴ روز پس از SPS، به دو زیر گروه گروه ورزشی (به مدت ۴ هفته، هفته‌ای ۵ روز) گروه کنترل هیچ مداخله‌ای صورت نمی‌گیرد، تقسیم شدند.

/ایجاد PTSD از طریق SPS (single prolonged stress)
استرس واحد طولانی

این مدل به عنوان یک مدل حیوانی معتبر برای القای PTSD می‌باشد. SPS در سه مرحله، محدود نمودن حیوان به مدت ۲ ساعت در یک Forced swim restrainer به مدت ۲۰ دقیقه و پس از آن، بیهوشی با اتر، انجام شد (۲۷، ۲۶).

ورزش اجباری متوسط با استفاده از Treadmill

از دستگاه Treadmill برقی ساخت شرکت برج صنعت استفاده شد. ۱۴ روز پس از SPS، مداخله ورزشی به مدت ۴ هفته، هر هفته ۵ روز به این صورت که هفته اول، ۳۰ دقیقه در روز با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و هفته دوم تا چهارم، ۳۰ دقیقه در روز با سرعت ۱۵ متر در دقیقه انجام شد (۲۸).

بررسی حافظه تشخیصی Object Recognition Memory (ORMT) Task

یکی از انواع مدل‌های آزمایشی حافظه و یادگیری است و توانایی جوندگان را برای تشخیص یک جسم جدید در محیط ارزیابی می‌کند و دارای ۳ مرحله Habituation Phase، Training Phase و Test Phase است. در مرحله Habituation Phase، ابتدا حیوان آزادانه در یک Open field گردش نمود تا آن را کشف نماید. هیچ شیئی در محیط مذکور نبوده است. سپس حیوان به قفس خود برگردانده شد. این مرحله، مدت ۱۰ دقیقه در هر روز، برای ۴ روز تکرار شد. Training Phase، در مرحله دوم حیوان به Open field برگردانده شد، ۲ جسم کاملاً شبیه به هم به مدت پنج دقیقه در اختیار وی قرار گرفت. Test Phase، بعد از ۲۴ ساعت حیوان به Open field برگردانده شد، مجدداً دو جسم در اختیار وی قرار گرفت اما یکی از آن‌ها جسمی است که قبلاً حیوان با آن آشنا شده بود و جسم دیگر، یک شیء جدید می‌باشد و فاکتورهای

رات به داخل دستگاه منتقل خواهد شد و زمان ورود به داخل قسمت تاریک اندازه گیری می شود. اگر پس از مدت ۱۸۰ ثانیه وارد نشد، به آرامی با کمک دست به داخل قسمت تاریک رانده می شود. در این مرحله شوکی به حیوان وارد نمی شود و به وی اجازه داده می شود که به مدت ۱۸۰ ثانیه در قسمت تاریک باقی بماند. این فرایند برای ۴ روز ادامه داشت (۳۱) (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۲: دستگاه شاتل باکس برای سنجش خاموشی ترس

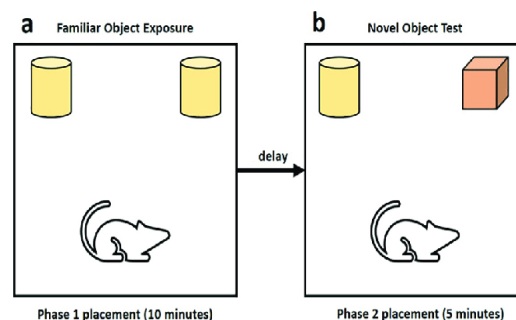
بررسی ساختمان بافتی هیپوکمپ به روش گلژی کاکس
روش رنگ آمیزی

پس از پایان مداخله و انجام تست های رفتاری، حیوانات تحت بیهوشی عمیق با استفاده از کتامین و زایلازین کشته شده و قشر پرفرونتال جدا شده و بقیه قسمت های مغز جهت مطالعه بافتی هیپوکمپ در محلول Golgi-cox قرار گرفت، تا فیکس شوند (۳۲). مغز رت ها بلافاصله پس از جدا شدن در فیکساتور قرار گرفت. نمونه ها به مدت ۸ هفته در فیکساتور و در تاریکی نگهداری شد. سپس نمونه ها پاساژ داده شده و برش هایی به ضخامت ۱۰ تا ۲۰ میکرون تهیه شد و در نهایت بررسی انشعابات نورونی در ناحیه هیپوکمپ در کلیه گروه های سالم و مبتلا به PTSD انجام شد.

اندازه گیری میزان BDNF

کور تکس پره فرونتال در مجاورت فسفات بافر
سالین و با کمک یک دستگاه هموژنایزر خرد شده و

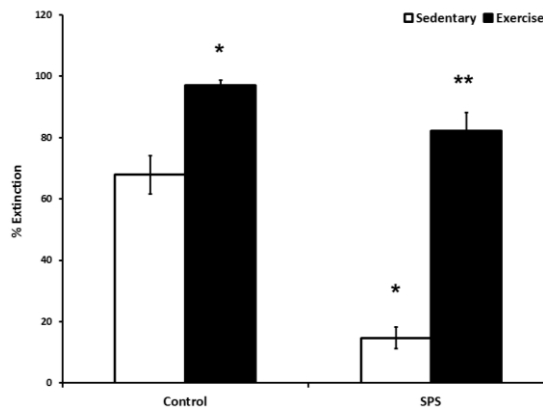
Time exploring Novel location (TN) مدت زمان صرف شده برای کشف جسم جدید و Time exploring Familiar location مدت زمان صرف شده برای کشف جسم قبلی اندازه گیری شد. Exploration Index برای هر حیوان که فرمول $TN/TN+TF$ محاسبه شد. Exploration Index فاکتوری است که برای ارزیابی حافظه شناختی جسم جدید در این تست به کار می رود و نشان دهنده مدت زمان حضور حیوان در کنار جسم جدید می باشد. اگر درصد ضریب اکتشاف در یک حافظه تشخیصی دست نخورده در فاز تست، بزرگ تر از ۵۰ درصد باشد؛ نشان دهنده سپری کردن زمان بیش تر برای کشف جسم جدید است (۲۹) (تصویر شماره ۱).



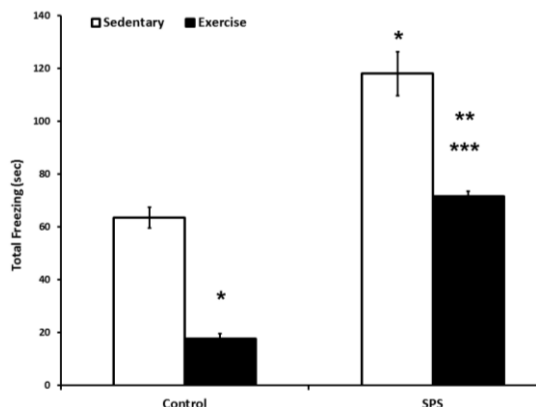
تصویر شماره ۱: تست حافظه شناختی (۳۰)

بررسی خاموشی ترس (Fear Extinction)

برای این تست از دستگاه شاتل باکس استفاده شد. مراحل آزمایش شامل Conditioning و Extinction بوده است. در مرحله Conditioning، حیوان در داخل اتاقک روشن دستگاه قرار گرفت و هنگامی که به طور غریزی وارد اتاقک تاریک شد دریچه گیوتینی بسته می شود و پس از ۲۰ ثانیه شوک الکتریکی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱ میلی آمپر به مدت ۳ ثانیه که به کف پای حیوان اعمال می گردد، لذا به طور شرطی یاد می گیرد که وارد اتاقک تاریک نشود. حیوان به مدت ۶۰ ثانیه در قسمت تاریک باقی مانده، سپس از قسمت تاریک برداشته و به قفس منتقل شد. در مرحله Extinction، ۲۴ ساعت بعد



نمودار شماره ۱: بررسی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط بر %Extinction در رت‌های نر سالم و بیمار (mean±SEM & (n=8)): * (P= ۰/۰۰۰۱) اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل غیر ورزشی (Control/Sedentary) ** (P= ۰/۰۰۳۷) اختلاف معنادار با گروه SPS غیر ورزشی (SPS/Sedentary)



نمودار شماره ۲: بررسی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط بر Total Freezing در رت‌های نر سالم و بیمار (mean±SEM & (n=8)): * (P= ۰/۰۰۰۱) اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل غیر ورزشی (Control/Sedentary) ** (P= ۰/۰۰۰۱) اختلاف معنی‌دار با گروه SPS غیر ورزشی (SPS/Sedentary) *** (P= ۰/۰۰۰۱) اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ورزشی (Control/ Exercise)

بررسی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط بر Exploration Index در تست حافظه شناختی در رت‌های نر سالم و بیمار

بر اساس نمودار شماره ۳، SPS تغییر معناداری در Exploration Index، در گروه رت‌های بیمار نسبت به

سپس به مدت ۲۰ دقیقه با دور 11000×g در دمای ۴- درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید و محلول رویی آن برای اندازه گیری BDNF با روش ELISA مطابق دستورالعمل موجود در کیت شرکت Zell bio آلمان استفاده شد.

روش آنالیز آماری

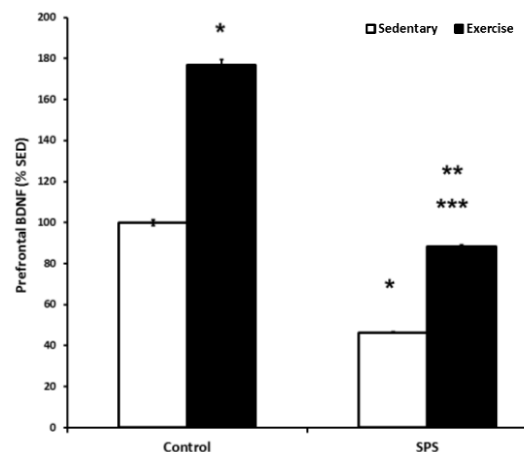
در تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه نرم‌افزاری SPSS22 استفاده شد. از آزمون‌های آنالیز واریانس دو طرفه (ورزش×SPS) و آزمون posthoc مناسب (تست Tukey) استفاده شد. اطلاعات به صورت (Mean±SEM) برای هر گروه ارائه شده و سطح معنی‌دار $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

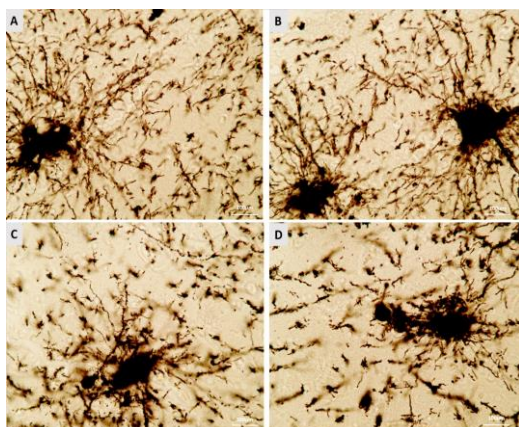
بررسی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط بر خاموشی ترس در رت‌های نر سالم و بیمار
در مقایسه درصد خاموشی (%Extinction) نمودار شماره ۱ نشان داد، SPS باعث کاهش معنی‌دار %Extinction در گروه رت‌های بیمار غیر ورزشی (SPS/sedentary) نسبت به گروه کنترل غیر ورزشی (Control/Sedentary) شده است (P= ۰/۰۰۰۱). در هر دو گروه کنترل و بیمار ورزش قادر به افزایش معنی‌دار درصد خاموشی بود (به ترتیب $P= ۰/۰۰۳۷$ و $P= ۰/۰۰۰۱$).

بررسی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط بر Total Freezing در رت‌های نر سالم و بیمار
بر اساس نمودار شماره ۲، SPS باعث افزایش معنی‌دار Total Freezing در گروه رت‌های بیمار غیر ورزشی (SPS/sedentary) نسبت به گروه کنترل غیر ورزشی (Control/Sedentary) شده است (P= ۰/۰۰۰۱). در هر دو گروه کنترل و بیمار ورزش قادر به کاهش معنادار Total Freezing بود (P= ۰/۰۰۰۱). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین تاثیر ورزش بر گروه سالم و گروه بیمار مشاهده شد (P= ۰/۰۰۰۱).

بر روی مقاطع بافتی هیپوکمپ (تصویر شماره ۳) نشان داد که تراکم انشعابات دندریتی در گروه رت‌های مواجه شده با SPS نسبت به گروه سالم کم‌تر بوده و ورزش اجباری متوسط به مدت ۴ هفته باعث افزایش این انشعابات شده است. در گروه سالم نیز، این برنامه ورزشی باعث افزایش تراکم انشعابات دندریتی شده است.

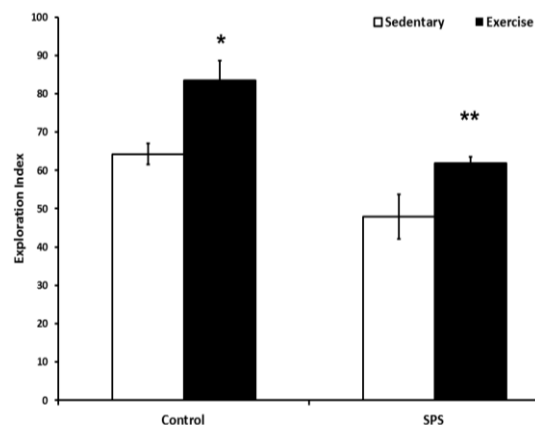


نمودار شماره ۴: بررسی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط میزان BDNF در قشر پرفرونتال در رت‌های نر سالم و بیمار (mean±SEM & (n=8))
 * (Control/Sedentary): $P=0/0001$ اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل غیر ورزشی
 *** (SPS/Sedentary): $P=0/0001$ اختلاف معنی‌دار با گروه SPS غیر ورزشی
 ** (Control/Exercise): $P=0/0001$ اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل غیر ورزشی
 *** (Control/Exercise): $P=0/0001$ اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ورزشی



تصویر شماره ۳: بررسی مقاطع بافتی ناحیه هیپوکمپ به وسیله رنگ آمیزی گلژی کاکس. A: سالم غیر ورزشی، B: سالم ورزشی، C: بیمار غیر ورزشی، D: بیمار ورزشی

گروه کنترل ایجاد نمی‌کند. در گروه کنترل ورزش قادر به افزایش معنادار Exploration Index نسبت به گروه غیر ورزشی (Control/Sedentary) بود ($P=0/018$). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین تاثیر ورزش بر گروه سالم و گروه بیمار مشاهده شد ($P=0/007$).



نمودار شماره ۳: بررسی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط بر Exploration Index در رت‌های نر سالم و بیمار (mean±SEM & (n=8))
 * (Control/Sedentary): $P=0/018$ اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل غیر ورزشی
 ** (Control/Exercise): $P=0/007$ اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ورزشی

بررسی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط بر میزان BDNF در قشر پرفرونتال در رت‌های نر سالم و بیمار
 در نمودار شماره ۴، SPS باعث کاهش معنی‌دار میزان BDNF، در قشر پرفرونتال در گروه رت‌های بیمار غیر ورزشی (SPS/Sedentary) نسبت به گروه کنترل غیر ورزشی (Control/Sedentary) شده است ($P=0/0001$). در هر دو گروه کنترل و بیمار ورزش قادر به افزایش معنی‌دار میزان BDNF در قشر پرفرونتال بود ($P=0/0001$) و ($P=0/001$) هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین تاثیر ورزش بر گروه سالم و گروه بیمار مشاهده شد ($P=0/0001$).

بررسی اثر ورزش اجباری با شدت متوسط بر انشعابات دندریتی در ناحیه هیپوکمپ در رت‌های نر سالم و بیمار
 مطالعه بافت‌شناسی براساس رنگ آمیزی گلژی کاکس

بحث

در این مطالعه، تأثیر یک دوره ۴ هفته ایی ورزش اجباری با شدت متوسط بر تغییرات رفتاری (خاموشی ترس و حافظه شناختی) و ساختمان بافتی هیپوکمپ و تغییرات مولکولی (میزان BDNF) در قشر پره فرونتال مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج این بررسی نشان داد رت‌های مبتلا به PTSD کاهش خاموشی ترس به عنوان یک توانایی برای فراموشی خاطرات آزاردهنده و حافظه شناختی و همچنین کاهش میزان BDNF در قشر پره فرونتال و کاهش انشعابات دندریتی را نشان می‌دهند. برنامه ورزشی انتخاب شده قادر به بهبود معنی‌دار آسیب‌های رفتاری ایجاد شده و سطح BDNF در قشر پره فرونتال شد. هم‌چنین افزایش نسبی انشعابات دندریتی در هیپوکمپ می‌باشد.

در این مطالعه از SPS به عنوان یک مدل حیوانی PTSD استفاده شد. تغییرات فیزیولوژیک و رفتاری القا شده توسط مدل SPS مشابه نشانه‌های PTSD در انسان می‌باشد، این مدل حیوانی همراه با افزایش آپوپتوز در نواحی هیپوکمپ و آمیگدال، قشر پره فرونتال و دیگر نواحی مغزی می‌باشد (۳۷-۳۳). اختلال استرس پس از سانحه یک اختلال روان‌پریشی است که منجر به اختلال در فراموشی خاطرات آزاردهنده و افزایش اضطراب و آسیب حافظه و اختلال در ترشح برخی نوروترانسمیترها می‌باشد، که پس از مواجهه با شرایط تروماتیک در برخی افراد بروز می‌کند. زیربنای رفتار و یادگیری‌های مرتبط با ترس و تهدید در پستانداران مدارهای عصبی است. مدار آمیگدال-هیپوکامپ-قشر پیش پیشانی میانی، از جمله شناخته شده‌ترین مدارها در این بیماری هستند. در این بیماری، رشد دندریت‌ها و سیناپس‌های قشر آمیگدال افزایش می‌یابد، این در حالی است که فعالیت قشر پره فرونتال که مسئول عملکردهای اجرایی فرد است، و قشر هیپوکمپ که برای حافظه کوتاه مدت و تصمیم‌گیری سازمان یافته است، کاهش می‌یابد. تمامی این عوامل موجب بروز علائم این بیماری می‌شود (۳۸).

مطالعات نشان داده‌اند که ورزش اثرات قابل توجهی بر کاهش علائم افسردگی، اضطراب و PTSD دارد (۳۹). اگرچه برخی یافته‌ها متفاوت هستند. اکثر مطالعات تا به امروز کوچک و بدون متدولوژی استاندارد بوده‌اند. مطالعات شامل شدت‌های مختلف ورزشی (مانند یوگا، پیاده‌روی، دوچرخه‌سواری، تمرینات قدرتی شدید هوازی) و طول مدت مداخله از ۲ تا ۱۲ هفته می‌باشند. فعالیت هوازی کاهش شدت علائم را نشان داده است، اما شدت فعالیت هوازی موثر جهت بیش‌ترین تأثیر بر کاهش علائم PTSD نامشخص است. مطالعاتی که از مداخله یوگا استفاده کرده‌اند، یافته‌های متناقضی دارند، اگرچه همه بهبودی نسبی را نشان داده‌اند. علاوه بر این، مشخص نیست که آیا طول مداخله به عنوان یک اثر تعدیل‌کننده بر کاهش شدت علائم PTSD موثر است یا خیر (۴۰). در مطالعه حاضر، القاء استرس منجر به کاهش خاموشی ترس شد. ورزش اجباری با شدت متوسط منجر به بهبود معنی‌دار این آسیب گردید 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 (۴۱). برخلاف ترس شرطی شده، خاموشی توسط یک ناحیه خاص مغز واسطه‌گری نمی‌شود و به پلاستیسیته درون یک شبکه عصبی وابسته است. قشر پره فرونتال، هیپوکمپ و خصوصاً آمیگدال در اکتساب، تثبیت و بازخوانی خاموشی ترس شرطی شده نقش دارند (۴۲).

در بررسی Freezing (بی‌حرکتی) به عنوان یک رفتار مرتبط با ترس، افزایش رفتار Freezing موش‌هایی که در معرض SPS قرار گرفته بودند، در آزمون ترس شرطی شده مشاهده شد که هم‌سو با مطالعات قبلی می‌باشد (۴۳). 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 متوسط ورزشی در انسان‌ها نیز منجر به افزایش خاموشی ترس می‌شود. در تایید مطالعات قبلی، نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که ورزش قادر به افزایش Fear Extinction می‌باشد (۴۴-۴۶). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین تاثیر ورزش بر گروه سالم و گروه بیمار مشاهده شد. در این مطالعه SPS باعث کاهش معنادار BDNF در قشر پره‌فرونتال شد که هم‌سو با مطالعات قبلی می‌باشد و در تایید مطالعات دیگر، در مطالعه حاضر ورزش قادر به افزایش سطح فاکتور نوروتروفیک در این ناحیه بود (۴۸، ۴۷، ۲۷). باید توجه داشت که نمی‌توان صرفاً اعداد BDNF مطالعات مختلف را با هم مورد ارزیابی قرار داد. به‌طور مثال سطح پایه BDNF در نمونه مورد مطالعه Zubia Shah و همکاران در مقایسه با مقادیر میانگین BDNF سرم در جمعیت سالم کم‌تر بود (۴۹). مقادیر پایین‌تر در مطالعات ممکن است به تفاوت‌های قومیتی یا سطوح مختلف فعالیت بدنی در تحقیقات دیگر نسبت داده شود (۵۰). سطح سرمی BDNF در مطالعه Zubia Shah بهبود قابل توجهی را به دنبال متوسط در مقابل ورزش شدید نشان داد. 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 گلوکوگوریکویدی و افزایش گیرنده‌های آن در استرس ایجاد شده در SPS منجر به تغییر سیگنالینگ BDNF و در نتیجه کاهش عملکرد آن می‌شود (۵۱). 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 و خاموشی یا فراموشی خاطرات آزار دهنده شکلی از یادگیری و حافظه می‌باشد. 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 جایی‌که ورزش منجر به تسهیل یادگیری و حافظه می‌شود، می‌تواند در شکل‌گیری حافظه جدید و خاموشی ترس مؤثر باشد (۵۲). دلایل مختلفی برای افزایش BDNF در گردش پس از ورزش پیشنهاد شده‌اند، به عنوان مثال در بافت مغز، اندوتلیوم عروقی، سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی، پلاکت‌ها و ماهیچه‌های اسکلتی بهبود در جریان مغزی به عنوان یکی از عوامل اصلی در نظر گرفته شده است (۵۳). براساس برخی مطالعات، استرس فیزیولوژیکی ناشی از ورزش حاد، بیان BDNF را افزایش می‌دهد (۵۴). ورزش هم‌چنین پلاکت‌ها را تحریک می‌کند که با افزایش تعداد پلاکت‌ها و مقدار BDNF در هر پلاکت، به ذخیره زیستی در دسترس BDNF کمک می‌کنند (۵۵). در نهایت، اگرچه عضله اسکلتی مستقیماً در افزایش BDNF در طول ورزش دخیل نیست، ممکن است به حداکثر بیان BDNF هیپوکامپ کمک کند و در نتیجه باعث بهبود دراز مدت در سلامت مغز شود. در میان مکانیسم‌های مربوط به ماهیت وابسته به شدت پاسخ حاد BDNF، می‌توان به موارد، آزادسازی BDNF توسط پلاکت‌ها براساس افزایش کاتکول آمین‌ها و فعالیت عصب سمپاتیک ناشی از تمرینات ورزشی، ارتباط بین شدت ورزش و مسیر لاکتات که در متابولیسم مغز نیز نقش دارد، هیپوکسی مغز و آسیب عضلانی مرتبط با ورزش با شدت بالا ممکن است واکنش فوری در BDNF در گردش ایجاد کند و در نهایت، هیپرترمی ناشی از ورزش باعث افزایش جریان خون و در نتیجه انتقال BDNF می‌شود، اشاره کرد (۵۳).

مطالعه حاضر، نقش BDNF در وساطت اثر ورزش بر نورون‌نرئز در ناحیه هیپوکمپ در مطالعه PZ Liu به اثبات رسیده است (۵۹). هم‌سو با مطالعه حاضر یک مطالعه سیستماتیک در حیوانات و انسان‌ها نیز، اثرات مثبت فاکتورهای نوروتروفیک (BDNF, GDNF, and NGF) را بر نورو پلاستیسیته و روندهای شناختی و یادگیری و حافظه نشان داده است (۶۰).

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مستخرج از پایان نامه مصوب به شماره ۹۳۹۲ متعلق به دانشجوی رشته پزشکی آقای مهرزاد مردانی می‌باشد که از محل معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران (مرکز تحقیقات ایمونونوتیک) تامین اعتبار شده است و دارای کد اخلاق به شماره IR.MAZUMS.AEC.1402.005 می‌باشد. بدین وسیله از همکاری معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران و مرکز تحقیقات ایمونونوتیک در این مطالعه قدردانی می‌شود.

References

1. Beidel DC, Frueh BC, Neer SM, Bowers CA, Trachik B, Uhde TW, et al. Trauma management therapy with virtual-reality augmented exposure therapy for combat-related PTSD: A randomized controlled trial. *J Anxiety Disord* 2019; 61: 64-74.
2. Teshome AA, Abebe EC, Mengstie MA, Seid MA, Yitbarek GY, Molla YM, et al. Post-traumatic stress disorder and associated factors among adult war survivors in Northwest Ethiopia: community-based, cross-sectional study. *Front Psychiatry* 2023; 14: 1083138..
3. Rady A, Elsheshai A, Elkholy O, Abou el Wafa H. Psychogenetics of post-traumatic stress disorder: a short review. *Appl Clin Genet* 2010; 3: 103-108.
4. Richter-Levin G, Stork O, Schmidt MV. Animal models of PTSD: a challenge to be met. *Mol Psychiatry* 2019; 24(8): 1135-1156.
5. Hayes JP, Hayes S, Miller DR, Lafleche G, Logue MW, Verfaellie M. Automated measurement of hippocampal subfields in PTSD: evidence for smaller dentate gyrus volume. *J Psychiatr Res* 2017; 95: 247-252.
6. Sripada RK, King AP, Welsh RC, Garfinkel SN, Wang X, Sripada CS, et al. Neural dysregulation in posttraumatic stress disorder: evidence for disrupted equilibrium between salience and default mode brain networks.

- Psychosom Med 2012; 74(9): 904-911.
7. Heun-Johnson H, Levitt P. Differential impact of Met receptor gene interaction with early-life stress on neuronal morphology and behavior in mice. *Neurobiolog Stress* 2018; 8: 10-20
 8. Mehta D, Binder EB. Gene× environment vulnerability factors for PTSD: the HPA-axis. *Neuropharmacology* 2012; 62(2): 654-662.
 9. Zhu J, Wang C, Wang Y, Guo C, Lu P, Mou F, et al. Electroacupuncture alleviates anxiety and modulates amygdala CRH/CRHR1 signaling in single prolonged stress mice. *Acupunct Med* 2022; 40(4): 369-378.
 10. Manohar S, Lockwood P, Drew D, Fallon SJ, Chong TTJ, Jeyaretna DS, et al. Reduced decision bias and more rational decision making following ventromedial prefrontal cortex damage. *Cortex* 2021; 138: 24-37.
 11. Schrimpf M, Blank IA, Tuckute G, Kauf C, Hosseini EA, Kanwisher N, et al. The neural architecture of language: Integrative modeling converges on predictive processing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2021; 118(45): e2105646118.
 12. Cooper JA, Nuutinen MR, Lawlor VM, DeVries BAM, Barrick EM, Hossein S, et al. Reduced adaptation of glutamatergic stress response is associated with pessimistic expectations in depression. *Nat Commun* 2021; 12(1): 3166..
 13. Singh S, Topolnik L. Inhibitory circuits in fear memory and fear-related disorders. *Front Neural Circuits* 2023; 17: 1122314.
 14. Binette AN, Liu J, Bayer H, Crayton KL, Melissari L, Sweck SO, et al. Parvalbumin-Positive Interneurons in the Medial Prefrontal Cortex Regulate Stress-Induced Fear Extinction Impairments in Male and Female Rats. *J Neurosci* 2023; 43(22): 4162-4173.
 15. 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): 118-22.
 16. Zhang L, Li X-X, Hu X-Z. Post-traumatic stress disorder risk and brain-derived neurotrophic factor Val66Met. *World J Psychiatry* 2016; 6(1): 1-6.
 17. Leschik J, Lutz B, Gentile A. Stress-Related Dysfunction of Adult Hippocampal Neurogenesis—An Attempt for Understanding Resilience?. *Int J Mol Sci* 2021; 22(14): 7339.
 18. Verma M, Lizama BN, Chu CT. Excitotoxicity, calcium and mitochondria: a triad in synaptic neurodegeneration. *Transl Neurodegener* 2022; 11(1): 3.
 19. Cenkner DP, Asnaani A, DiChiara C, Harb GC, Lynch KG, Greene J, et al. Neurocognitive Predictors of Treatment Outcomes in Cognitive Processing Therapy for Post-traumatic Stress Disorder: Study Protocol. *Front Psychol* 2021; 12: 625669.
 20. Shi H-J, Wang S, Wang X-P, Zhang R-X, Zhu L-J. Hippocampus: Molecular, Cellular, and Circuit Features in Anxiety. *Neurosci Bull* 2023; 39(6): 1009-1026.
 21. Anderson EH, Shivakumar G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. *Front Psychiatry* 2013; 4:27.
 22. Oppizzi LM, Umberger R. The Effect of Physical Activity on PTSD. *Issues Ment Health Nurs* 2018; 39(2): 179-187.
 23. Hegberg NJ, Hayes JP, Hayes SM. Exercise Intervention in PTSD: A Narrative Review and Rationale for Implementation. *Front Psychiatry* 2019; 10: 133.

24. Mirjalili R, Shokouh E, Dehkordi NS, Afsari R, Shafia S, Rashidy-Pour A. Prior short-term exercise prevents behavioral and biochemical abnormalities induced by single prolonged stress in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Behav Brain Res* 2022; 428: 113864.
25. Silverman MN, Deuster PA. Biological mechanisms underlying the role of physical fitness in health and resilience. *Interface focus* 2014; 4(5): 20140040.
26. Mirjalili R, Shokouh E, Dehkordi NS, Afsari R, Shafia S, Rashidy-Pour A. Prior short-term exercise prevents behavioral and biochemical abnormalities induced by single prolonged stress in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Behavioural Brain Research* 2022; 428: 113864.
27. Yakhkeshi R, Roshani F, Akhoundzadeh K, Shafia S. Effect of treadmill exercise on serum corticosterone, serum and hippocampal BDNF, hippocampal apoptosis and anxiety behavior in an ovariectomized rat model of post-traumatic stress disorder (PTSD). *Physiol Behav* 2022; 243: 113629.
28. Zare Z, Zarbakhsh S, Tehrani M, Mohammadi M. Neuroprotective Effects of Treadmill Exercise in Hippocampus of Ovariectomized and Diabetic Rats. *Neuroscience* 2022; 496: 64-72.
29. Chen Y-F, Song Q, Colucci P, Maltese F, Siller-Pérez C, Prins K, et al. Basolateral amygdala activation enhances object recognition memory by inhibiting anterior insular cortex activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022; 119(22): e2203680119.
30. Barker TH, George RP, Howarth GS, Whittaker AL. Assessment of housing density, space allocation and social hierarchy of laboratory rats on behavioural measures of welfare. *PloS one* 2017; 12(9): e0185135.
31. Pan H-Q, Liu X-X, He Y, Zhou J, Liao C-Z, You W-J, et al. Prefrontal GABAA (δ) R promotes fear extinction through enabling the plastic regulation of neuronal intrinsic excitability. *J Neurosci* 2022; 42(29): 5755-5770.
32. Zaqout S, Kaindl AM. Golgi-cox staining step by step. *Front Neuroanat* 2016; 10 :38.
33. Jia Y, Han Y, Wang X, Han F. Role of apoptosis in the Post-traumatic stress disorder model-single prolonged stressed rats. *Psychoneuroendocrinology* 2018; 95: 97-105.
34. Han F, Yan S, Shi Y. Single-prolonged stress induces endoplasmic reticulum-dependent apoptosis in the hippocampus in a rat model of post-traumatic stress disorder. *PLoS One* 2013; 8(7): e69340.
35. Ding J, Han F, Shi Y. Single-prolonged stress induces apoptosis in the amygdala in a rat model of post-traumatic stress disorder. *J Psychiatr Res* 2010; 44(1): 48-55.
36. Wen L, Han F, Shi Y, Li X. Role of the endoplasmic reticulum pathway in the medial prefrontal cortex in post-traumatic stress disorder model rats. *J Mol Neurosci* 2016; 59(4): 471-82.
37. Zhao W, Han F, Shi Y. IRE1 α pathway of endoplasmic reticulum stress induces neuronal apoptosis in the locus coeruleus of rats under single prolonged stress. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2016; 69: 11-18.
38. Ressler KJ, Berretta S, Bolshakov VY, Rosso IM, Meloni EG, Rauch SL, et al. Post-traumatic stress disorder: clinical and translational neuroscience from cells to circuits. *Nat Rev Neurol* 2022; 18(5): 273-288.

39. Fetzner MG, Asmundson GJ. Aerobic Exercise Reduces Symptoms of Posttraumatic Stress Disorder: A Randomized Controlled Trial. *Cogn Behav Ther* 2015; 44(4): 301-313.
40. Oppizzi LM, Umberger R. The Effect of Physical Activity on PTSD. *Issues in Mental Health Nursing* 2018; 32(2): 179-187.
41. 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.
42. Orsini CA, Maren S. Neural and cellular mechanisms of fear and extinction memory formation. *Neurosci Biobehav Rev* 2012; 36(7): 1773-1802.
43. 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; 6657716.
44. 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.
45. 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.
46. Crombie KM, Sartin-Tarm A, Sellnow K, Ahrenholtz R, Lee S, Matalamaki M, et al. Aerobic exercise and consolidation of fear extinction learning among women with posttraumatic stress disorder. *Behav Res Ther* 2021; 142: 103867.
47. Baranowski BJ, MacPherson RE. Acute exercise induced BDNF-TrkB signalling is intact in the prefrontal cortex of obese, glucose-intolerant male mice. *Appl Physiol Nutr Metab* 2018; 43(10): 1083-1089.
48. Wang D-C, Lin H-T, Lee Y-J, Yu H-F, Wu S-R, Qamar MU. Recovery of BDNF and CB1R in the prefrontal cortex underlying improvement of working memory in prenatal DEHP-exposed male rats after aerobic exercise. *Int J Mol Sci* 2020; 21(11): 3867.
49. Shah Z, Ahmad F, Zahra M, Zulfiqar F, Aziz S, Mahmood A. Effect of Single Bout of Moderate and High Intensity Interval Exercise on Brain Derived Neurotrophic Factor and Working Memory in Young Adult Females. *Brain Plast* 2022; 8(1): 35-42.
50. Yeebo MF. Ethnic differences in BDNF Val66Met polymorphism. *British J Psychiatr* 2015; 207(4): 363-363.
51. 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.
52. 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.
53. Walsh JJ, Tschakovsky ME. Exercise and circulating BDNF: Mechanisms of release and implications for the design of exercise

- interventions. *Appl Physiol Nutr Metab* 2018; 43(11): 1095-1104.
54. Brunelli A, Dimauro I, Sgrò P, Emerenziani GP, Magi F, Baldari C, et al. Acute exercise modulates BDNF and pro-BDNF protein content in immune cells. *Med Sci Sports Exerc* 2012; 44(10): 1871-1880.
55. Serra-Millàs M. Are the changes in the peripheral brain-derived neurotrophic factor levels due to platelet activation?. *World J Psychiatry*. 2016; 6(1): 84-101.
56. Smith KL, Kassem MS, Clarke DJ, Kuligowski MP, Bedoya-Pérez MA, Todd SM, et al. Microglial cell hyper-ramification and neuronal dendritic spine loss in the hippocampus and medial prefrontal cortex in a mouse model of PTSD. *Brain Behav Immun* 2019; 80: 889-899.
57. Moench KM, Wellman CL. Stress-induced alterations in prefrontal dendritic spines: implications for post-traumatic stress disorder. *Neurosci Lett* 2015; 601: 41-45.
58. Lattanzi D, Savelli D, Pagliarini M, Cuppini R, Ambrogini P. Short-term, voluntary exercise affects morpho-functional maturation of adult-generated neurons in rat hippocampus. *Int J Mol Sci* 2022; 23(12): 6866.
59. Liu PZ, Nusslock R. Exercise-mediated neurogenesis in the hippocampus via BDNF. *Front Neurosci* 2018; 12: 52.
60. de Sousa Fernandes MS, Ordônio TF, Santos GCJ, Santos LER, Calazans CT, Gomes DA, et al. Effects of physical exercise on neuroplasticity and brain function: a systematic review in human and animal studies. *Neural Plast* 2020; 2020: 8856621.