

## *Effects of Intense Exercise and Fluoxetine on Alterations Caused by Single Prolonged Stress in Female Rats*

Sakineh Shafia<sup>1</sup>,  
Gohar Ghahramani<sup>2</sup>,  
Moslem Mohammadi<sup>3</sup>,  
Saeed Kargar-soleimanabad<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor, Immunogenetic Research Center, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> Medical Student, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Associate Professor, Department of Physiology, Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 18, 2023; Accepted August 13, 2023)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a psychotic disorder that occurs in people who have faced with various types of stressors. However, the efficacy of drug and psychotherapy methods, even in combination is still low. Therefore, complementary treatments are being researched. The relative improvement of PTSD has been observed with the use of Serotonin Selective Reuptake Inhibitors (SSRIs). The effect of exercise has also been determined in improving physical and mental health. But the appropriate exercise intensity is still in question. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of intense exercise, fluoxetine, and their combined treatment on behavioral, molecular, and cellular damages caused by a standard model of PTSD.

**Materials and methods:** Single prolonged stress (SPS) was used as a model to induce PTSD. Exercise (1 hour, 15 m/min) was planned for five days per week and fluoxetine (10 mg/kg/day) dissolved in drinking water was administered for four weeks. After performing the anxiety test, the animals were killed under deep anesthesia and blood samples were collected to measure IGF-1 serum levels by ELISA method and prefrontal cortex was frozen to measure apoptotic factors by RT-PCR method.

**Results:** SPS rats showed increased anxiety levels and decreased serum IGF-1 levels. Increased Bax and Caspase-3 mRNA expression, and decreased Bcl2 mRNA expression were found in the prefrontal cortex. Exercise, fluoxetine, and their combined intervention increased IGF-1, decreased the expression of pro-apoptotic factors, and increased the expression of anti-apoptotic factors. The results showed that the combined intervention of exercise and fluoxetine could reduce the anxiety caused by SPS.

**Conclusion:** Considering that fluoxetine was more effective in comparison with high-intensity exercise, it is clear that in the groups that were affected by both interventions; fluoxetine played a more significant role.

**Keywords:** post-traumatic stress syndrome, single prolonged stress, intense exercise, anxiety, IGF-1, apoptosis, fluoxetine

**J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33(224): 1-16 (Persian).**

**Corresponding Author: Moslem Mohammadi** - Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: mohammadimo@yahoo.com)

# اثرات ورزش شدید، فلوکستین و تاثیر توام آنها بر تغییرات ناشی از استرس تک واحدی طولانی مدت در رت‌های ماده

سکینه شفیعا<sup>1</sup>گوهر قهرمانی<sup>2</sup>مسلم محمدی<sup>3</sup>سعید کارگر سلیمان آباد<sup>2</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** بیماری استرس پس از تروما، بیماری روان‌پریشی است که در صورت مواجهه با انواع مختلف استرسورها رخ می‌دهد. کارایی روش‌های دارویی و روان‌درمانی حتی در همراهی با یکدیگر نیز همچنان پایین است و بدین جهت درمان‌های مکمل مورد بررسی می‌باشد. بهبود نسبی علائم بیماری با استفاده از داروهای مهارکننده انتخابی برداشت سروتونین (SSRIs) مشاهده شده است، اثر ورزش نیز در بهبود سلامتی جسمی و روحی مشخص شده است، اما شدت ورزشی مناسب همچنان مورد سوال می‌باشد. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثر ورزش شدید و داروی فلوکستین و اثر توام آنها بر آسیب‌های رفتاری و سلولی مولکولی ناشی از یک مدل استاندارد سندرم استرس پس از سانحه (PTSD) می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** از مدل استرس طولانی مدت تک واحدی به عنوان یک مدل برای القاء PTSD استفاده شد. مداخله ورزشی (روزی یک ساعت، با سرعت 15 m/min) و دارویی (10 mg/kg) به مدت چهار هفته انجام گرفت. پس از انجام تست اضطراب، تحت بیهوشی عمیق، نمونه خون جهت اندازه‌گیری میزان IGF-1 سرم (روش الایزا) جمع‌آوری شد. قشر پره فرونتال نیز جهت اندازه‌گیری فاکتورهای آپوپتوزی به روش RT-PCR فریز شد.

**یافته‌ها:** رت‌های SPS افزایش اضطراب و کاهش IGF-1 سرم و افزایش بیان mRNA مربوط به Bax و Caspase-3 و کاهش بیان mRNA مربوط به Bcl2 در قشر پره فرونتال را نشان دادند. هر دو مداخله به تنهایی و توام باعث افزایش IGF-1 و کاهش بیان فاکتورهای پروآپوپتوتیک و افزایش بیان فاکتور آنتی‌آپوپتوتیک شدنند مداخله توام سبب کاهش اضطراب شد. **استنتاج:** مداخله ورزشی و فلوکستین و مداخله توام منجر به افزایش IGF-1 سرم و کاهش بیان فاکتورهای پروآپوپتوتیک و افزایش بیان فاکتور آنتی‌آپوپتوتیک در قشر پره فرونتال شد و مداخله توام در کاهش اضطراب مفید بود. با توجه به این که تاثیر مداخله دارویی بارزتر از تاثیر ورزش با شدت بالا بود، مشخص می‌شود در گروه‌هایی که تحت تاثیر هر دو مداخله قرار گرفتند، فلوکستین نقش مهم تری را ایفا کرده است.

**واژه‌های کلیدی:** سندرم استرس پس از سانحه، استرس طولانی مدت تک واحدی، ورزش شدید، اضطراب، IGF-1، آپوپتوز، فلوکستین

## مقدمه

اختلال اضطراب پس از سانحه، یک آشفتگی روانی است که پس از مواجهه فرد با حوادث آسیب‌رسان مانند تجاوز، جنگ، تصادف، بلایای طبیعی و تهدیدهایی که بر جنبه‌های مختلف زندگی فرد تأثیر می‌گذارند به

**مؤلف مسئول:** مسلم محمدی - ساری: کیلومتر 17 جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

E-mail: mohammadimo@yahoo.com

1. استادیار، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات ایمنونئوتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

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

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

تاریخ دریافت: 1402/3/28 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/4/7 تاریخ تصویب: 1402/5/22

وجود می‌آید(1). تجربه مجدد حادثه تروماتیک، دوری کردن از هر عاملی که مرتبط با تروما باشد، تغییرات منفی در خلق و خوی و شناخت و پاسخ‌های پرشی اغراق‌آمیز چهار نشانه اصلی PTSD می‌باشد(2). میزان شیوع PTSD در زنان 12-10 درصد و در مردان 6-5 درصد است(3) 60 درصد مردان و 50 درصد زنان در طول زندگی با حوادث تروماتیک روبه‌رو می‌شوند، در حالی که شیوع نسبی PTSD، 7/6 درصد است(4). این نشان می‌دهد که تنها عامل ایجادکننده PTSD، حادثه ترومایی نیست، احتمالاً افرادی با زمینه ژنتیکی آسیب‌پذیر، ریسک بیشتری برای ابتلا به PTSD پس از تجربه یک حادثه تروماتیک دارند(5). احتمال ابتلا به آشفتگی‌های روانی مرتبط با اضطراب و استرس در زنان دو برابر مردان است(6)، شدت و دوام نشانه‌های آن نیز در زنان بیش‌تر است(7). در بیماران PTSD فعالیت سه ساختار مهم مغزی مانند آمیگدال، هیپوکمپ و قشر پره فرونتال نیز تغییر می‌کند(8,9). وجود و شدت علائم PTSD با ناهنجاری‌های ساختاری ماده خاکستری و سفید در لوب‌های تمپورال میانی و قشر پره‌فرونتال شکمی و جانبی همراه است(10).

درمان‌های دارویی رایج PTSD عبارتند از: ضدافسردگی‌های سه حلقه‌ای، مهارکننده‌های منوآمینو اکسیداز و مهارکننده‌های انتخابی برداشت سروتونین. در این میان، ترکیبات SSRIs به‌عنوان خط اول درمانی برای مبتلایان به PTSD شناخته شده‌اند، زیرا اثربخشی آن‌ها نسبت به سایر داروها بیش‌تر است(11). فلوکستین یکی از مهارکننده‌های انتخابی برداشت سروتونین است که استفاده از آن برای درمان افسردگی، اختلال و سواسی اجباری، اختلال هراس و پرخوری عصبی و اختلال افسردگی پیش از قاعدگی پذیرفته شده‌است. این دارو برای مبتلایان به PTSD نیز پیشنهاد می‌شود(12). این دارو باعث کاهش اضطراب و افزایش شکل‌پذیری سیناپسی و پاک شدن حافظه ترس در mice ها از طریق BDNF می‌شود(13). امروزه ورزش به‌طور گسترده‌ای برای کاهش

بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های متابولیک، افزایش طول عمر و بهبود سلامت روانی توصیه می‌شود(14). تاثیر ورزش در درمان بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو نیز به اثبات رسیده است(15).

مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده‌اند که ورزش سبب افزایش یادگیری و حافظه می‌شود. اثرات مثبت آن بر فعالیت‌های شناختی از طریق افزایش نورون‌زایی در هیپوکمپ، افزایش شکل‌پذیری سیناپس‌ها و نیز افزایش رهایش فاکتورهای رشد اعمال می‌شود(16). مجموعه‌ای از مطالعات نشان می‌دهد که ورزش علائم PTSD را کاهش می‌دهد. برخی به تاثیر قابل توجه ورزش شدید در کاهش علائم این بیماری اشاره کرده‌اند(17) و بیان شده است که ورزش شدید به‌طور معنی‌دار و معکوس با شدت علائم PTSD در ارتباط می‌باشد(18). هم‌چنین نشان داده شده است که ورزش‌هایی که با طول مدت بیش‌تر منجر به افزایش مشخص BDNF محیطی نسبت به ورزش‌های کوتاه مدت می‌شود(19). از طرفی برخی مطالعات نشان داده است که ورزش شدید می‌تواند منجر به آسیب بافتی شده(20) و تمرین بیش از حد می‌تواند اثرات مخربی بر مغز داشته باشد(21). در اکثر مطالعات به تاثیر پایدار و سودمند برنامه‌های ورزشی با شدت متوسط اشاره شده است(22) نشان داده شده است که سطح BDNF وابسته به شدت ورزش می‌باشد و ورزش‌هایی با شدت بالاتر ممکن است باعث کاهش سطح BDNF بشوند(23). با این وجود هنوز در مورد شدت ورزشی مناسب جهت بهبود آسیب‌های ناشی از مواجهه با عوامل تروماتیک اتفاق نظر وجود ندارد، با توجه به این که مطالعات قبلی ما تاثیر مثبت ورزش با شدت متوسط بر آسیب‌های رفتاری و سلولی مولکولی ناشی از استرس را نشان داده بود(24-27)، بر آن شدیم تا تاثیر ورزش شدید را در مقایسه با داروی فلوکستین به تنهایی و به‌صورت توأم بر این تغییرات بررسی نماییم.

فاکتور رشد شبه انسولین 1 (IGF-1) دارای شباهت ساختاری با انسولین بوده و سبب افزایش نوروپلاستیستی

حرارت محیط حدود  $24 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد با دوره نوری طبیعی (12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی) نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش نیز آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار گرفت. کلیه آزمایشات طبق پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه و در محل مرکز تحقیقات حیوانات دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد.

#### مداخله دارویی

حیوانات به دو گروه سالم (sham) و ناسالم (SPS) تقسیم شدند.

14 روز پس از SPS، برای مطالعه اثرات داروی فلوکستین، کلیه حیوانات گروه‌های SPS و Sham به گروه‌های دریافت‌کننده دارو و عدم دریافت دارو تقسیم شدند. دوز دارو برای کلیه گروه‌های دریافت‌کننده دارو  $10 \text{ mg/kg/day}$  به مدت 4 هفته حل شده در آب آشامیدنی بود. حیوانات گروه کنترل آب آشامیدنی دریافت کردند (36).

هر یک از گروه‌های سالم (sham) و ناسالم (SPS) به 4 زیر گروه تقسیم شدند:

الف) ورزش شدید (EXC)

ب) دریافت‌کننده داروی فلوکستین (FLX)

ج) استفاده توأم از ورزش شدید و داروی فلوکستین (FLX-EXC)

د) کنترل (عدم دریافت دارو و عدم انجام ورزش) (SED-VEH)

#### القا PTSD

در این مطالعه از مدل Single Prolonged Stress (SPS) برای القا PTSD استفاده شد. ایجاد PTSD از طریق SPS در سه مرحله انجام شد: هر rat به مدت 2 ساعت در داخل یک restrainer پلی اتیلن قرار گرفت. سپس در یک سیلندر آکرلیک شفاف (قطر 240 mm و ارتفاع 500 mm) که دو سوم آن از آب پر شده بود، به مدت

می‌شود. این تغییرات با اثربر گیرنده‌های کلسیمی و سیستم‌های گاباژیک مشخص می‌شود (28). از طرفی این فاکتور اثرات تنظیم‌کننده‌ای در مرگ سلولی دارد (29). ورزش با افزایش سطح IGF-1 و BDNF در خون و مغز، اثر نوروتروفیک خود را نشان می‌دهد (30). گزارش شده است که، استرس مزمن در موش‌ها باعث کاهش سطح IGF-1 می‌شود و ورزش شدید باعث افزایش ساخت IGF-1 در مغز و کبد موش‌ها شده و عملکرد هیپوکمپ را بهبود می‌بخشد (31-33). اثرات ضد اضطراب و افسردگی IGF-1 در انسان‌ها گزارش شده است و در بیماران PTSD کاهش سطح آن مشاهده می‌شود. استفاده از داروهای ضد افسردگی باعث افزایش سطح IGF-1 می‌شود (34). مشخص شده است که سطح سرمی IGF-1 یک عامل تاثیرگذار بر پاسخ‌های شبه اضطراب می‌باشد. IGF-1 از طریق تاثیر بر فعالیت محور HPA منجر به کاهش اضطراب می‌شود (35). با توجه به این که PTSD منجر به آسیب نواحی مختلف مغزی و تغییر عملکرد نورمال آن‌ها می‌شود، یکی از اهداف درمانی در این بیماری بهبود آسیب‌های ناشی از تروما مانند مرگ سلولی و تغییر ترشح فاکتورهای نوروتروفیک می‌باشد و با توجه به شیوع بیش‌تر این بیماری در جنس مونث و این مسئله که شدت ورزشی مناسب برای بهبود آسیب‌های ناشی از این بیماری هم‌چنان مورد سوال می‌باشد، هدف از این مطالعه مقایسه بین تاثیر درمان روتین و یک برنامه ورزشی شدید بر آسیب‌های ناشی از یک مدل حیوانی PTSD بود و تاثیر این روش‌های درمانی بر این عارضه مورد ارزیابی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

در این مطالعه تجربی، با کد اخلاق IR.MAZUMS.AEC.1401.024، 56 ماده بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی 200-250 به صورت تصادفی به 8 گروه 7 تایی تقسیم شدند و در درجه

20 دقیقه شنای قدرتی انجام داد. 15 دقیقه پس از پایان شنا، به وسیله دی اتیل اتر دچار عدم هوشیاری شد و سپس در شرایط آرام به مدت 14 روز در قفس ماند (37).

القای ورزش اجباری شدید با استفاده از Treadmill

برای القای ورزش اجباری 14 روز پس از SPS رت‌ها به دو گروه ورزشی و غیر ورزشی تقسیم شدند. گروه ورزشی ابتدا به شرایط دستگاه عادت کرد و سپس برنامه ورزشی اصلی انجام شد. عادت دادن: به مدت 3 روز، هر روز 15 دقیقه با حداقل سرعت (3 متر بر دقیقه) حیوانات روی دستگاه قرار گرفته و ورزش کردند (38). برای انجام ورزش از دستگاه Treadmill برقی چهار lane ساخت شرکت برج صنعت استفاده شد. برنامه ورزشی به مدت 4 هفته، هر هفته 5 روز انجام شد و روزی 60 دقیقه با سرعت 15 متر در دقیقه انجام گرفت.

روش ارزیابی رفتارهای شبه اضطرابی

پس از پایان مداخله، تست اضطراب توسط Elevated Plus Maze (EPM) انجام شد.

دستگاه ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع یک مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است (39). این مدل تجربی جهت سنجش اضطراب غیرشرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد. این دستگاه از چوب ساخته شده است و شامل دو بازوی باز (هر یک 10×50 سانتی متر همراه با یک لبه 5 میلی متری) و دو بازوی بسته (هر یک 40×10×50 سانتی متر) و یک کفه مرکزی (10×10 سانتی متر) به طوری که بازوهای باز روبروی یکدیگر قرار دارند و حدود 70 سانتی متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرد.

روش ارزیابی اضطراب: حیوان در ماز به علاوه‌ای مرتفع (در قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار گرفت و به مدت 5 دقیقه پارامترهای، تعداد کل ورود به بازوهای باز (OAE)، تعداد ورود به بازوهای بسته (CAE)، مدت زمان ماندن در بازوهای باز (OAT)، مدت زمان

ماندن در بازوهای بسته (CAE) ثبت شد (39). بر طبق مطالعات قبلی، افزایش ورود به بازوی باز و افزایش مدت سپری شده در بازوی باز، شاخص کاهش اضطراب در رت در نظر گرفته شد (39).

ارزیابی میزان IGF-1

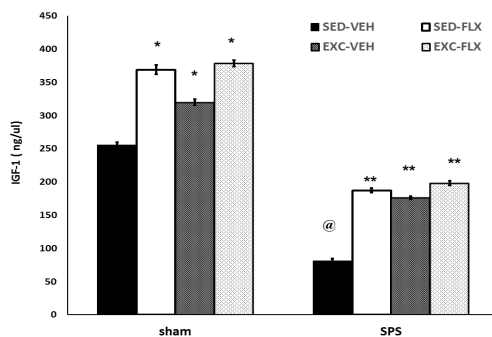
حیوانات به وسیله کتامین 100 میلی گرم/کیلوگرم و زایلازین 2/5 میلی گرم/کیلوگرم به طور عمیق بیهوش شده (40) و به روش خون گیری از گردن نمونه خون جهت اندازه گیری IGF-1 سرم به روش رادیوایمونواسی جمع آوری شد. پس از سانتریفوژ کردن خون با سرعت 4000 دور به مدت 5 دقیقه، سرم به دست آمده جمع آوری و تا زمان اندازه گیری در 20- درجه سانتی گراد نگهداری شد. اندازه گیری IGF-1 به وسیله کیت الایزا (شرکت zelibo آلمان و طبق پروتکل کیت) انجام شد.

اندازه گیری فاکتورهای مرتبط با آپوپتوز به روش (RT-PCR)

در این آزمایش بیان mRNA پروتئین‌های پرو-آپوپتوتیک (Bax, Caspase 3) و آنتی آپوپتوتیک (Bcl2) در قشر پرفرونتال بررسی شد. پس از کشتن رت‌ها مغزها خارج شده و قشر پره فرونتال به سرعت جدا و در 20°C- تا هنگام استفاده برای استخراج RNA فریز شد. سپس قشر پره فرونتال هموژنیزه شد و RNA تام به وسیله دستورالعمل کیت استخراج RNA استخراج شد (DENA ZIST ASIA, Mashhad, Iran) و سپس از RNA به دست آمده جهت سنتز cDNA به روش رونویسی معکوس و با استفاده از کیت سنتز cDNA (Bioneer Inc. Seoul, South Korea) استفاده شد. cDNA به دست آمده تا هنگام استفاده در 20°C- ذخیره شد. (ژن رفرانس بتا اکتین می باشد جدول شماره 1).

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه نرم افزاری SPSS<sup>22</sup> استفاده شد. از آزمون‌های آنالیز واریانس سه

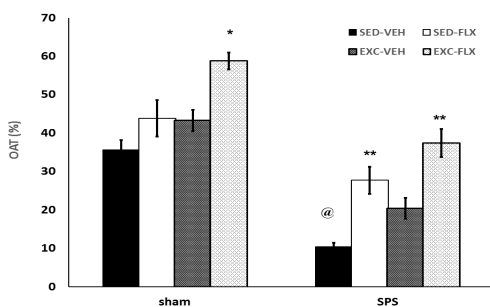


#### نمودار شماره 1: سطح IGF-1 در سرم

@: سطح IGF-1 سرم در گروه ناسالم نسبت به گروه سالم کاهش معنی دار نشان می دهد (P=0/0001).

\*: در گروه سالم، مداخله ورزشی، دارویی و مداخله توام افزایش معنا دار سطح IGF-1 سرم را نسبت به گروه بدون مداخله را سبب شده است (P=0/0001).

\*\*:@: در گروه ناسالم، مداخله دارویی (P=0/028)، ورزشی (P=0/035) و مداخله توام (P=0/0001) باعث افزایش معنی دار سطح IGF-1 سرم شد. mean±SEM & (n=7)



#### نمودار شماره 2: مدت زمان حضور در بازوهای باز

@: مدت زمان حضور در بازوی باز در گروه ناسالم نسبت به گروه سالم کاهش معنی دار نشان می دهد (P=0/0001).

\*: در گروه سالم مدت زمان حضور در بازوهای باز در گروه مداخله توام دارویی و ورزشی نسبت به گروه بدون مداخله به صورت معنی داری افزایش یافته است (p=0/0001).

\*\*:@: در گروه ناسالم نیز مداخله دارویی (p=0/035) و مداخله توام (p=0/001) باعث افزایش معنی دار مدت زمان حضور در بازوهای باز شد. ورزش شدید تاثیر معنی داری بر OAT در این گروه نداشت. mean±SEM & (n=7)

تعداد ورود به بازوی باز (Open Arm Entry, OAE):

در مقایسه OAE بین رت های گروه SPS و Sham، آنالیز واریانس کاهش معنی دار این فاکتور را در گروه SPS نشان داد (P=0/0001) در گروه sham، OAE تنها در گروه مداخله توام دارویی و ورزشی نسبت به گروه

طرفه (دارو × ورزش × SPS) و آزمون posthoc مناسب استفاده شد. اطلاعات به صورت (Mean±SEM) برای هر گروه ارائه شد و سطح معنی داری P<0/05 در نظر گرفته شد.

جدول شماره 1: توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

اندازه (bp)	Sequence (5'→3')	پارامترها
152	GGCTGGACTGGACTTC	Bax forward
	CAGATGGTGAGTGAGGCA	Bax reverse
141	GTGGACAACATCGCTCTG	Bcl2 forward
	AGACAGCCAGGAGAAATCA	Bcl2 reverse
122	GACAACAACGAAACCTCC	Caspase forward
	AGGGTAATCAATTTGTAAGT	Caspase reverse
199	GCCTTCCTCTGGGTAT	b-actin forward
	GAICTGATCTTCATGGTGCTA	b-actin reverse

## یافته ها

سطح IGF-1 در سرم رت های ماده سالم و رت های

مبتلا به PTSD

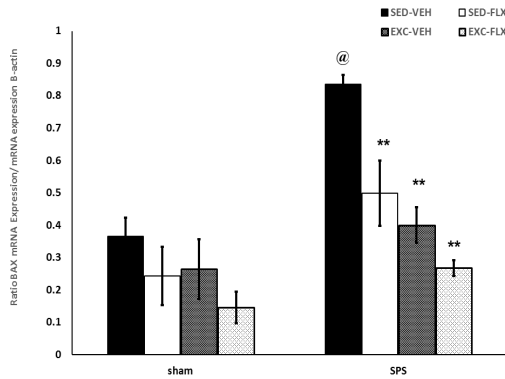
در مقایسه سطح IGF-1 در سرم رت های گروه SPS و Sham، آنالیز واریانس کاهش معنی دار این فاکتور را در گروه SPS نشان داد (P=0/0001). در گروه sham سطح IGF-1 سرم تحت تاثیر هر 3 مداخله نسبت به گروه بدون مداخله افزایش معنی داری داشت (P=0/0001). در گروه SPS مداخله دارویی (P=0/028) و ورزشی (P=0/035) و مداخله توام (P=0/0001) باعث افزایش معنی دار سطح IGF-1 سرم شد (نمودار شماره 1).

رفتارهای شبه اضطراب در رت های ماده سالم و رت های

مبتلا به PTSD

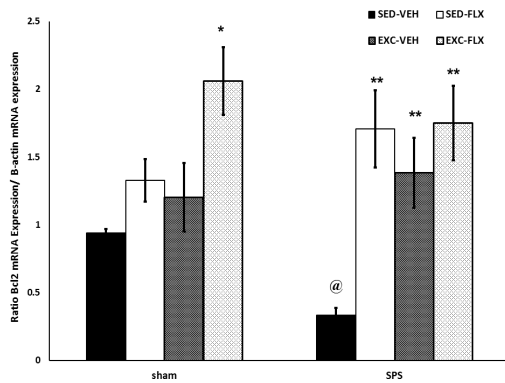
مدت زمان حضور در بازوهای باز (Open Arm Time, OAT): در مقایسه OAT بین رت های گروه SPS و Sham، آنالیز واریانس کاهش معنی دار این فاکتور را در گروه SPS نشان داد (P=0/0001) در گروه sham، OAT در گروه مداخله توام نسبت به گروه بدون مداخله افزایش معنی داری داشت (P=0/0001). در گروه SPS مداخله دارویی (P=0/035) و مداخله توام (P=0/001) باعث افزایش معنی دار OAT شد (نمودار شماره 2).

داشت ( $P=0/021$ ). در گروه SPS نیز مداخله دارویی ( $P=0/001$ ) و مداخله ورزشی ( $P=0/042$ ) باعث افزایش معنی دار بیان ژن BCL-2 شد (نمودار شماره 5).



نمودار شماره 4: مقایسه بیان mRNA ژن BAX

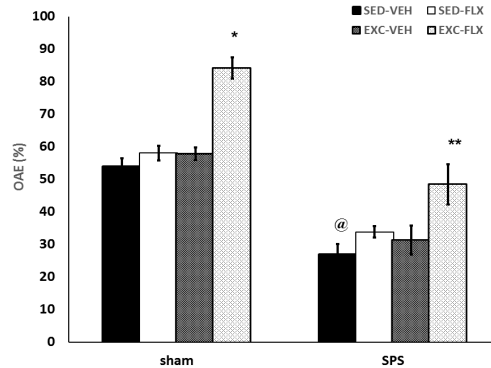
@ بیان ژن BAX در گروه ناسالم نسبت به گروه سالم افزایش معنی دار نشان می دهد ( $P=0/001$ ).  
\*\* در گروه ناسالم مداخله دارویی ( $P=0/027$ )، مداخله ورزشی ( $P=0/002$ ) و مداخله توام ( $P=0/0001$ ) هر سه باعث کاهش معنی دار بیان ژن BAX شد.  
mean±SEM & (n=7)



نمودار شماره 5: بیان mRNA ژن BCL2

@ بیان ژن BCL-2 در گروه ناسالم نسبت به گروه سالم نظیر کاهش معنی دار نشان می دهد ( $P=0/001$ ).  
\* در گروه سالم مداخله توام باعث افزایش معنی دار بیان ژن BCL-2 شد ( $P=0/021$ ).  
\*\* در گروه ناسالم نیز مداخله دارویی ( $P=0/001$ ) و مداخله ورزشی ( $P=0/042$ ) و مداخله توام ( $P=0/001$ ) هر سه باعث افزایش معنی دار بیان ژن BCL-2 شد.  
mean±SEM & (n=7)

بدون مداخله به صورت معنی داری افزایش یافته است ( $P=0/0001$ ). در گروه SPS مداخله توام ( $P=0/001$ ) باعث افزایش معنی دار OAE شد (نمودار شماره 3).



نمودار شماره 3: تعداد ورود به بازوی باز

@: تعداد ورود به بازوی باز در گروه ناسالم نسبت به گروه سالم کاهش معنی دار نشان می دهد ( $P=0/0001$ ).  
\* در گروه سالم، تعداد ورود به بازوی باز در گروه مداخله توام نسبت به گروه بدون مداخله به صورت معنی داری افزایش یافته است ( $P=0/0001$ ).  
\*\* در گروه ناسالم نیز تنها مداخله توام ( $P=0/001$ ) باعث افزایش معنی دار تعداد ورود به بازوی باز شد.  
mean±SEM & (n=7)

بررسی فاکتورهای موثر بر آپوپتوز با بررسی بیان mRNA

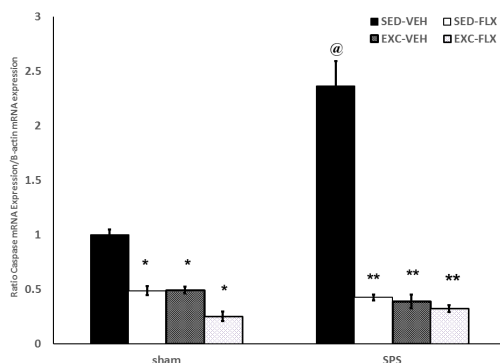
ژن‌ها با روش Real Time PCR در قشر پره فرونتال

بررسی بیان ژن BAX

در مقایسه میزان بیان ژن BAX بین رت‌های گروه SPS و Sham، آنالیز واریانس افزایش معنی دار این فاکتور را در گروه SPS نشان داد ( $P=0/001$ ). در گروه sham هیچ یک از مداخله‌ها تاثیر معنی داری بر بیان ژن BAX نداشت. در گروه SPS مداخله دارویی ( $P=0/027$ ) و مداخله ورزشی ( $P=0/002$ ) و مداخله توام ( $P=0/0001$ ) هر سه باعث کاهش معنی دار بیان ژن BAX شد (نمودار شماره 4).

بررسی فاکتور BCL-2

در مقایسه میزان بیان ژن BCL-2 بین رت‌های گروه SPS و Sham، آنالیز واریانس کاهش معنی دار این فاکتور را در گروه SPS نشان داد ( $P=0/001$ ) در گروه sham مداخله توام تاثیر معنی داری بر بیان ژن BCL-2



نمودار شماره 7: بیان mRNA ژن Caspase-3

@: بیان ژن Caspase-3 در گروه ناسالم نسبت به گروه سالم افزایش معنی دار نشان می دهد (P=0/0001).

\*: در گروه سالم مداخله دارویی (P=0/006) و ورزشی (P=0/006) و توام (P=0/0001) کاهش معنی دار بیان ژن Caspase-3 را سبب شده اند.

\*\* : در گروه ناسالم نیز هر سه مداخله باعث کاهش معنی دار بیان ژن Caspase-3 شد (P=0/0001).

mean±SEM & (n=7)

## بحث

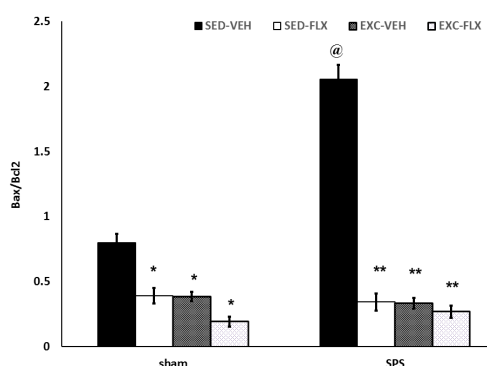
در این مطالعه از SPS به عنوان یک مدل حیوانی PTSD استفاده شد. تغییرات فیزیولوژیک و رفتاری القا شده توسط مدل SPS مشابه نشانه های PTSD در انسان می باشد (42) و افزایش آپوپتوز در نواحی هیپوکمپ (43) و آمیگدال (44) و قشر پره فرونتال (45) و دیگر نواحی مغزی دیده می شود (46). در این مطالعه کاهش سطح فاکتور IGF-1 سرم و افزایش روند آپوپتوز در قشر پره فرونتال و افزایش اضطراب در رت های ماده SPS مشاهده شد.

نتایج مطالعات حیوانی در مورد تأثیر ورزش بر اضطراب متناقض است. برخی مطالعات گزارش کرده اند که ورزش باعث کاهش رفتارهای شبه اضطراب می شود (47). در حالی که گروهی دیگر اثر استرس زای ورزش را بیان نموده اند (48).

مطالعه Mizzi تأثیر یک مداخله ورزشی هوازی 8 هفته ای را بر بهبود علائم خلقی در بزرگسالان جوان در معرض تروما نشان داد (49). هم راستا با مطالعه حاضر، مطالعه دیگری نیز تأثیر ورزش تردمیل بر کاهش

## بررسی نسبت بیان ژن BAX به BCL2

در مقایسه نسبت بیان ژن BAX به BCL2 بین رت های گروه SPS و Sham، آنالیز واریانس افزایش معنی دار این فاکتور را در گروه SPS نشان داد (P=0/0001) در گروه sham هر سه مداخله باعث کاهش معنی دار این نسبت شد (P=0/001). در گروه SPS نیز هر سه مداخله باعث کاهش معنی دار این نسبت شد (P=0/0001) (نمودار شماره 6).



نمودار شماره 6: بررسی نسبت بیان ژن BAX به BCL2

@ نسبت بیان ژن BAX به BCL2 در گروه ناسالم نسبت به گروه سالم افزایش معنی دار نشان می دهد (P=0/0001).

\*: در گروه سالم هر سه مداخله باعث کاهش معنی دار نسبت بیان ژن BAX به BCL2 شده است (P=0/001).

\*\* : در گروه ناسالم نیز هر سه مداخله باعث کاهش معنی دار نسبت بیان ژن BAX به BCL2 داشته است (P=0/0001).

mean±SEM & (n=7)

## بررسی بیان Caspase-3

در مقایسه میزان بیان ژن Caspase-3 بین رت های گروه SPS و Sham، آنالیز واریانس افزایش معنی دار این فاکتور را در گروه SPS نشان داد (P=0/0001). در گروه sham مداخله دارویی (P=0/006) و ورزشی (P=0/006) و توام (P=0/0001) تأثیر معنی داری بر بیان ژن Caspase-3 داشت. در گروه SPS نیز هر سه مداخله باعث کاهش معنی دار بیان ژن Caspase-3 شد (P=0/0001) (نمودار شماره 7).



آلوپرگسانولون می‌شوند و از این طریق باعث تسهیل نوروترانسمیشن رسپتور  $GABA_A$  و بهبود آشفستگی‌های رفتاری شده (59) و باعث بلوک اثر استرس بر تکثیر سلولی در هیپوکمپ می‌شود و نوروپلاستیسیته در این ناحیه را افزایش می‌دهد (13).

نتایج مطالعه حاضر از کاهش سطح سرمی IGF-1 به دنبال SPS حکایت داشت و تاثیر هر یک از مداخله‌ها به تنهایی و توأم قادر به افزایش سطح این فاکتور بود. ورزش قادر است میزان BDNF، نورونزیز (60) و پلاستیسیته سیناپسی را افزایش دهد و باعث بهبود یادگیری و حافظه شود. اثرات مثبت ورزش بر فعالیت‌های شناختی از طریق افزایش نوروپلاستیسیته در هیپوکمپ، افزایش شکل‌پذیری سیناپس‌ها و نیز افزایش رهایش فاکتورهای رشد اعمال می‌شود (16، 73-61). دامنه وسیعی از تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک به دنبال ورزش رخ می‌دهند که برخی از این تغییرات نقش مهمی در وساطت اثر ورزش بر عملکرد و ساختار مغز بازی می‌کنند (74-85). داروهای SSRIs نیز باعث کاهش علائم شبه PTSD شده (86) و باعث افزایش نوروپلاستیسیته در هیپوکمپ می‌شود (87).

در این مطالعه شدت ورزشی در حد ایجاد آسیب‌های سلولی نبود و تا حدی منجر به بهبود آسیب‌های ناشی از مواجهه با استرس شد اما در همراهی با داروی فلوکستین که اثرات مثبت آن بر روند نورونزیز مشاهده شده است یک اثر سینرژیک ایجاد کرده و بهبود قابل توجهی را در پی داشته است.

در تایید یافته‌های این مطالعه، نتایج یک مطالعه مروری نیز بیان گر کاهش سطح فاکتور IGF-1 در هیپوکمپ و کورتکس پره فرونتال به دنبال مواجهه با استرس بود (88). سطح IGF-1 سرم به طور مثبتی با کاهش بیان نشانه‌های PTSD در انسان‌ها همراه است. IGF-1 و BDNF و فاکتور رشد فیبروبلاستی در بیماران افسرده کاهش می‌یابند و درمان روتین با ضد افسردگی‌ها باعث افزایش این فاکتورها می‌شود (34).

مطالعه دیگری نیز بیان داشته است که پایین بودن

رفتارهای شبه اضطراب القاشده توسط SPS را در رت‌های مادر نشان داده است (50). ورزش شدید می‌تواند اثرات عکس ورزش کرونیك را ایجاد نماید (20). تمرین شدید منجر به ایجاد آسیب اکسیداتیو در لیپیدها و پروتئین‌ها در مغز شده و آسیب بافتی را به دنبال دارد (21). برنامه‌های ورزشی با شدت متوسط و طولانی به بهبود عملکرد شناختی کمک می‌کنند (51). در حالی که پروتکل‌های ورزشی کوتاه مدت و شدید باعث آسیب عملکرد مغز می‌شوند (52). در مورد علت ایجاد تغییرات رفتاری در صورت مواجهه با عوامل استرس‌زا، برخی اساس پاسخ‌های فیزیولوژیک به محرک‌های تروماتیک را تحت تاثیر تغییر عملکرد سیستم‌های سمپاتوآدرنال و محور HPA می‌دانند که با افزایش مشخصی در کورتیکوسترون پلازما همراه است (53). احتمالاً کورتیکوسترون نقش مهمی در وساطت اثرات SPS بر مغز و دیگر ارگان‌ها بازی می‌کند. قرار گرفتن طولانی مدت در معرض گلوکوکورتیکوئیدها اثرات نورووتوکسیک بر سطوح مغزی در گیر در اضطراب و افسردگی مانند هیپوکمپ و آمیگدال اعمال می‌کند (54). استرس‌های اکسیداتیو نیز می‌توانند در ایجاد رفتارهای شبه اضطراب دخیل باشند. تولید رادیکال‌های آزاد به روش‌های فارماکولوژیک و غیر فارماکولوژیک باعث ایجاد رفتارهای شبه اضطراب در رت‌ها می‌شود. استرس باعث تجمع ترکیبات اکسیداتیو در نواحی هیپوکمپ و کورتکس پره فرونتال رت‌ها شده، کاهش رشد، افزایش کورتیکوسترون و افزایش رفتارهای شبه اضطراب را به دنبال دارد (55). در بررسی عوامل مؤثر بر بهبود رفتارهای شبه اضطراب، ورزش به عنوان عاملی که قادر است با تاثیر بر عملکرد فیزیولوژیک بسیاری از سیستم‌ها موجب کاهش این رفتارها بشود از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بررسی‌ها نشان داده است که ورزش از طریق کاهش استرس اکسیداتیو بهبود عملکرد میانجی‌های عصبی مانند سروتونین (56) و نور آدرنالین (57)، BDNF و عملکرد محور HPA (58) می‌تواند به کاهش رفتارهای اضطرابی کمک کند.

فلوکستین و ترکیبات مشابه باعث افزایش سطح

سطح IGF-1 زمینه را برای ابتلای افراد به انواع بیماری های روان پریشی از جمله PTSD فراهم می کند (89). هم راستا با مطالعه حاضر، کاهش میزان IGF-1 در قشر پره فرونتال و سرم و افزایش آپوپتوز در قشر مشاهده شده است (88). Fernandez و همکاران گزارش کردند که موش های فاقد گیرنده های عملکردی IGF-1 در نوروئین های اورکسین هیپوتالاموس جانبی به اثر ضد اضطرابی IGF-1 پاسخ نمی دهند و رفتاری شبیه PTSD ایجاد می کنند که با مهار نوروئین های اورکسین بهبود می یابد (90).

مطالعه Santi و همکاران نیز نشان داد که سطح سرمی IGF-1 عامل تعیین کننده مهمی در پاسخ های شبه اضطراب می باشد. بررسی مکانیسم های زمینه ساز این عملکرد نشان می دهد، IGF-1 در گردش بر فعالیت محور HPA اثر می گذارد که احتمالاً بخشی از آن با کنترل بیان FKBP5 می باشد که توسط گلوکوکورتیکوئیدها کنترل شده و منجر به کاهش اضطراب می شود (35). در مطالعه ای هم راستا با مطالعه حاضر، تاثیر یک دوره ورزش حاد در افزایش سطح IGF-1 در سرم افراد مبتلا به آلزایمر مشاهده شد (91). آپوپتوز تحت تاثیر یکسری فاکتورهای پیش آپوپتوزی (BAX و Caspase 3) و یکسری فاکتورهای آنتی آپوپتوزی (BCL2) می باشد. در این مطالعه، SPS منجر به افزایش روند آپوپتوز در قشر پره فرونتال شد و هر سه مداخله باعث کاهش این روند شدند.

Réus و همکاران یک اثر ضد آپوپتوتیک در مان با فلوکستین و اولانزاپین را پیشنهاد می کنند (92) که هم راستا با این مطالعه در مورد تاثیر فلوکستین می باشد. در مطالعه LOU و همکاران بر روی موش های مبتلا به یک مدل اختلال استرس پس از سانحه، کاهش رفتارهای شبه PTSD پس از درمان با فلوکستین مشاهده شد. نتایج مطالعه آنان نشان داد که پروتئین های مرتبط با اتوفازی تنظیم مثبت شده و عوامل انتهایی پس از درمان با فلوکستین کاهش یافت. فلوکستین می تواند اتوفازی را تقویت کرده و التهاب عصبی را در موش های مدل PTSD مهار کند، که یک مبنای نظری برای استفاده از

فلوکستین در درمان PTSD را فراهم می کند (93).

مطالعات دیگر نیز نشان داده اند که ورزش تردمیل باعث سائرس شدن پروسه مرگ سلول در طی آپوپتوز در هیپوکمپ احتمالاً از طریق مکانیسم های وساطت شده توسط NGF و BDNF می شود و در نتیجه باعث بهبود یادگیری و حافظه شده و منجر به مهار آپوپتوز در هیپوکمپ می شود (94).

مطالعه حاضر نشان داد ورزش تردمیل با شدت بالا به همراه فلوکستین باعث بهبود تغییرات رفتاری (اضطراب) و مولکولی (سطح IGF-1) و کاهش روند آپوپتوز در قشر پره فرونتال به دنبال SPS می شود. در این مطالعه تاثیر داروی فلوکستین بارزتر از تاثیر ورزش با شدت بالا بود و احتمال داده می شود در گروه هایی که تحت تاثیر هر دو مداخله قرار گرفتند، دارو نقش مهم تری را ایفا کرده است که احتمالاً به دلیل نقش ورزش شدید و تاثیر احتمالی آن بر فاکتورهای فوق می باشد. گرچه در این مطالعه ورزش استفاده شده بسیار شدید نبود که آثار تخریبی قابل توجهی ایجاد نماید اما تاثیر ورزش شدید به تنهایی ضعیف تر از تاثیر دارو بود. بنابراین پیشنهاد می شود، در استفاده از برنامه های ورزشی به عنوان روش های کمکی در درمان بیماران PTSD از یک برنامه ورزشی مناسب در کنار درمان روتین به عنوان یک روش درمانی مکمل استفاده شود.

## سپاسگزاری

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی با کد اخلاق IR.MAZUMS.AEC.1401.024 و حاصل پایان نامه مصوب به شماره 8853 متعلق به دانشجوی رشته پزشکی خانم گوهر قهرمانی می باشد که از محل معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران (مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک) تامین اعتبار شده است. بدین وسیله از همکاری معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران و مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک در این مطالعه قدردانی می شود.

## References

1. Shalev AY, Gevonden M, Ratanatharathorn A, Laska E, Van Der Mei WF, Qi W, et al. Estimating the risk of PTSD in recent trauma survivors: results of the International Consortium to Predict PTSD (ICPP). *World Psychiatry* 2019; 18(1): 77-87.
2. Daskalakis NP, McGill MA, Lehrner A, Yehuda R. Endocrine aspects of PTSD: Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and beyond. In: Martin C, Preedy V, Patel V, (eds). *Comprehensive Guide to Post-Traumatic Stress Disorders*. New York: Springer, Cham; 2016. p. 245-260.
3. Oakley LD, Kuo WC, Kowalkowski JA, Park W. Meta-Analysis of Cultural Influences in Trauma Exposure and PTSD Prevalence Rates. *J Transcult Nurs* 2021; 32(4): 412-424.
4. Redican E, Hyland P, Cloitre M, McBride O, Karatzias T, Murphy J, et al. Prevalence and predictors of ICD-11 posttraumatic stress disorder and complex PTSD in young people. *Acta Psychiatr Scand* 2022; 146(2): 110-125.
5. Rady A, Elsheshai A, Elkholy O, el Wafa HA. Psychogenetics of post-traumatic stress disorder: a short review. *Appl Clin Genet* 2010: 103-108.
6. Maeng LY, Milad MR. Sex differences in anxiety disorders: interactions between fear, stress, and gonadal hormones. *Horm Behav* 2015; 76: 106-117.
7. Villalta L, Smith P, Hickin N, Stringaris A. Emotion regulation difficulties in traumatized youth: A meta-analysis and conceptual review. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2018; 27(4): 527-544.
8. Shafia S, Vafaei AA, RashidRy-Pour A. Effects of Moderate Treadmill Exercise and Fluoxetine on Spatial Memory and Serum BDNF Levels in an Animal Model of Post-traumatic Stress Disorder. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 29(179): 1-17 (Persian).
9. Malejko K, Ablner B, Plener PL, Straub J. Neural correlates of psychotherapeutic treatment of post-traumatic stress disorder: a systematic literature review. *Front Psychiatry* 2017; 8: 85.
10. Alexandra Kredlow M, Fenster RJ, Laurent ES, Ressler KJ, Phelps EA. Prefrontal cortex, amygdala, and threat processing: implications for PTSD. *Neuropsychopharmacology* 2022; 47(1): 247-259.
11. Bernardy NC, Friedman MJ. Psychopharmacological strategies in the management of posttraumatic stress disorder (PTSD): what have we learned? *Curr Psychiatry Rep* 2015; 17: 1-10.
12. Muraro C, Dalla Tiezza M, Pavan C, Ribaldo G, Zagotto G, Orian L. Major depressive disorder and oxidative stress: in silico investigation of fluoxetine activity against ROS. *Appl Sci* 2019; 9(17): 3631.
13. Yu YH, Ou CY, Shyu BC, Huang ACW. Basolateral amygdala but not medial prefrontal cortex contributes to chronic fluoxetine treatments for PTSD symptoms in mice. *Behav Neurol* 2020; 2020: 8875087.
14. Wang R, Holsinger RD. Exercise-induced brain-derived neurotrophic factor expression: therapeutic implications for Alzheimer's dementia. *Ageing Res Rev* 2018; 48: 109-121.
15. Hirsch MA, van Wegen EE, Newman MA, Heyn PC. Exercise-induced increase in brain-derived neurotrophic factor in human Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Transl Neurodegener* 2018; 7(1): 7.

16. Lin T-W, Chen S-J, Huang T-Y, Chang C-Y, Chuang J-I, Wu F-S, et al. Different types of exercise induce differential effects on neuronal adaptations and memory performance. *Neurobiol Learn Mem* 2012; 97(1): 140-147.
17. LeardMann CA, Kelton ML, Smith B, Littman AJ, Boyko EJ, Wells TS, et al. Prospectively assessed posttraumatic stress disorder and associated physical activity. *Public Health Reports* 2011; 126(3): 371-383.
18. Harte CB, Vujanovic AA, Potter CM. Association between exercise and posttraumatic stress symptoms among trauma-exposed adults. *Eval Health Prof* 2015; 38(1): 42-52.
19. Szuhany KL, Bugatti M, Otto MW. A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *J Psychiatr Res* 2015; 60: 56-64.
20. Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev* 2008; 7(1): 34-42.
21. Ogonovszky H, Berkes I, Kumagai S, Kaneko T, Tahara S, Goto S, et al. The effects of moderate-, strenuous-and overtraining on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. *Neurochem Int* 2005; 46(8): 635-640.
22. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 2002; 25(6): 295-301.
23. Chan KL, Tong KY, Yip SP. Relationship of serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and health-related lifestyle in healthy human subjects. *Neurosci Lett* 2008; 447(2-3): 124-128.
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. 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.
26. 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.
27. Shafia S, Nikkiah 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.
28. 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.
29. Yan L, Xie M, Lu H, Zhang H, Shi M, Zhang Y, et al. Anti-apoptotic effect of IGF1 on Schwann exposed to hyperglycemia is mediated by neuritin, a novel neurotrophic factor. *Mol Neurobiol* 2018; 55(1): 495-505.
30. Greenwood BN, Strong PV, Foley TE, Fleshner M. A behavioral analysis of the impact of voluntary physical activity on

- hippocampus-dependent contextual conditioning. *Hippocampus* 2009; 19(10): 988-1001.
31. Cassilhas RC, Antunes HKM, Tufik S, De Mello MT. Mood, anxiety, and serum IGF-1 in elderly men given 24 weeks of high resistance exercise. *Percept Mot Skills* 2010; 110(1): 265-276.
  32. Nakajima S, Ohsawa I, Ohta S, Ohno M, Mikami T. Regular voluntary exercise cures stress-induced impairment of cognitive function and cell proliferation accompanied by increases in cerebral IGF-1 and GST activity in mice. *Behav Brain Res* 2010; 211(2): 178-184.
  33. Baek S-S. Role of exercise on the brain. *J Exerc Rehabil* 2016; 12(5): 380-385.
  34. Burgdorf J, Colechio EM, Ghoreishi-Haack N, Gross AL, Rex CS, Zhang X-l, et al. IGFBP2 produces rapid-acting and long-lasting effects in rat models of posttraumatic stress disorder via a novel mechanism associated with structural plasticity. *Int J Neuropsychopharmacol* 2017; 20(6): 476-484.
  35. 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.
  36. Schmidt U, Herrmann L, Hagl K, Novak B, Huber C, Holsboer F, et al. Therapeutic action of fluoxetine is associated with a reduction in prefrontal cortical miR-1971 expression levels in a mouse model of posttraumatic stress disorder. *Front Psychiatry* 2013; 4: 66.
  37. Yamamoto S, Morinobu S, Iwamoto Y, Ueda Y, Takei S, Fujita Y, et al. Alterations in the hippocampal glycinergic system in an animal model of posttraumatic stress disorder. *J Psychiatr Res* 2010; 44(15): 1069-1074.
  38. American Physiological Society. *Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols*. Maryland, US: APS; 2006.
  39. Malyshev AV, Sukhanova IA, Ushakova VM, Zorkina YA, Abramova OV, Morozova AY, et al. Peptide LCGA-17 Attenuates Behavioral and Neurochemical Deficits in Rodent Models of PTSD and Depression. *Pharmaceuticals (Basel)* 2022; 15(4): 462.
  40. Mohammadi M, Zare Z. Effects of treadmill exercise on cognitive functions and anxiety-related behaviors in ovariectomized diabetic rats. *Physiol Behav* 2020; 224: 113021.
  41. Shafia S, Ghadirzadeh E, Fayyaz Shahandashti AS, Ehsani Vostacolae S. Comparing the Effects of High and Moderate Intensity Exercise on Male and Female Rats with and without PTSD: A Behavioral and Biochemical Study. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2023; 32(216): 20-33 (Persian).
  42. 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.
  43. 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: 471-482.
  44. 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.
  45. 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): 471-482.
  46. Zhao W, Han F, Shi Y. IRE1 $\alpha$  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.
47. Ley C, Rato Barrio M, Koch A. "In the sport I am here": therapeutic processes and health effects of sport and exercise on PTSD. *Qualitative Health Research* 2018; 28(3): 491-507.
  48. 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.
  49. Mizzi AL, McKinnon MC, Becker S. The impact of aerobic exercise on mood symptoms in trauma-exposed young adults: a pilot study. *Front Behav Neurosci* 2022; 16: 829571.
  50. Seo JH, Kim TW, Kim CJ, Sung YH, Lee SJ. Treadmill exercise during pregnancy ameliorates post-traumatic stress disorder-induced anxiety-like responses in maternal rats. *Mol Med Rep* 2013; 7(2): 389-395.
  51. Myrhaug HT, Østensjø S, Lerdal B, Skranes J, Hammerstrøm KT, Risberg K, et al. *Intensive Training/Habilitation of Children with Congenital and Acquired Brain Damage*. Oslo, Norway: NIPH; 2008.
  52. Buchner DM, Wagner EH. Preventing frail health. *Clin Geriatr Med* 1992; 8(1): 1-17.
  53. Almeida FB, Pinna G, Barros HMT. The Role of HPA Axis and Allopregnanolone on the Neurobiology of Major Depressive Disorders and PTSD. *Int J Mol Sci* 2021; 22(11): 5495.
  54. Castro-Vale I, Carvalho D. The Pathways between Cortisol-Related Regulation Genes and PTSD Psychotherapy. *Healthcare (Basel)* 2020; 8(4): 376.
  55. 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.
  56. Kocahan S, Dundar A, Onderci M, Yilmaz Y. Investigation of the effect of training on serotonin, melatonin and hematologic parameters in adolescent basketball players. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2021; 42(4): 383-388.
  57. Rengo G, Pagano G, Parisi V, Femminella GD, de Lucia C, Liccardo D, et al. Changes of plasma norepinephrine and serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide after exercise training predict survival in patients with heart failure. *Int J Cardiol* 2014; 171(3): 384-389.
  58. D'Elia ATD, Juruena MF, Coimbra BM, Mello MF, Mello AF. Posttraumatic stress disorder (PTSD) and depression severity in sexually assaulted women: hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis alterations. *BMC Psychiatry* 2021; 21(1): 174.
  59. 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.
  60. 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.
  61. 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.
  62. Falls WA, Fox JH, MacAulay CM. Voluntary exercise improves both learning and

- consolidation of cued conditioned fear in C57 mice. *Behav Brain Res* 2010; 207(2): 321-331.
63. Naylor AS, Bull C, Nilsson MK, Zhu C, Björk-Eriksson T, Eriksson PS, et al. Voluntary running rescues adult hippocampal neurogenesis after irradiation of the young mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(38): 14632-14637.
64. Wong-Goodrich SJ, Pfau ML, Flores CT, Fraser JA, Williams CL, Jones LW. Voluntary running prevents progressive memory decline and increases adult hippocampal neurogenesis and growth factor expression after whole-brain irradiation. *Cancer Res* 2010; 70(22): 9329-9338.
65. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci* 1996; 16(6): 2027-2033.
66. Erickson C, Barnes C. The neurobiology of memory changes in normal aging. *Exp Gerontol* 2003; 38(1-2): 61-69.
67. 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.
68. Nägerl UV, Eberhorn N, Cambridge SB, Bonhoeffer T. Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron* 2004; 44(5): 759-767.
69. Redila V, Christie B. Exercise-induced changes in dendritic structure and complexity in the adult hippocampal dentate gyrus. *Neuroscience* 2006; 137(4): 1299-1307.
70. Zhao C, Teng EM, Summers RG, Ming G-I, Gage FH. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J Neurosci* 2006; 26(1): 3-11.
71. Stranahan AM, Khalil D, Gould E. Running induces widespread structural alterations in the hippocampus and entorhinal cortex. *Hippocampus* 2007; 17(11): 1017-1022.
72. Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* 1965; 124(3): 319-335.
73. Anderson E, Shivakumar G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. *Front Psychiatry* 2013; 4: 1-4.
74. Helmich I, Latini A, Sigwalt A, Carta MG, Machado S, Velasques B, et al. Neurobiological alterations induced by exercise and their impact on depressive disorders. *Clin Pract Epidemiol Ment Health* 2010; 6: 115-125.
75. Heim C, Nemeroff CB. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biol Psychiatry* 2001; 49(12): 1023-1039.
76. Heim C, Nemeroff CB. Neurobiology of posttraumatic stress disorder. *CNS Spectr* 2009; 14(1 Suppl 1): 13-24.
77. Schwarz L, Kindermann W. Changes in  $\beta$ -endorphin levels in response to aerobic and anaerobic exercise. *Sports Med* 1992; 13(1): 25-36.
78. Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Campisi J, Hammack SH, Campeau S, et al. Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *J Neurosci* 2003; 23(7): 2889-2898.
79. Mouloudi R, Alaei H, Sarkaki A, Ahmadi A. Chronic Running Exercise Promotes Spatial Learning And Memory In Rats. *Journal Of Isfahan Medical School (Iums)* 2007; 25(86): 30-37 (Persian).

80. Wu C-W, Chang Y-T, Yu L, Chen H-i, Jen CJ, Wu S-Y, et al. Exercise enhances the proliferation of neural stem cells and neurite growth and survival of neuronal progenitor cells in dentate gyrus of middle-aged mice. *J Appl Physiol* (1985) 2008; 105(5): 1585-1594.
81. O'callaghan RM, Ohle R, Kelly ÁM. The effects of forced exercise on hippocampal plasticity in the rat: A comparison of LTP, spatial-and non-spatial learning. *Behav Brain Res* 2007; 176(2): 362-366.
82. Marlatt MW, Potter MC, Lucassen PJ, van Praag H. Running throughout middle-age improves memory function, hippocampal neurogenesis, and BDNF levels in female C57BL/6J mice. *Dev Neurobiol* 2012; 72(6): 943-952.
83. Hattiangady B, Rao MS, Shetty GA, Shetty AK. Brain-derived neurotrophic factor, phosphorylated cyclic AMP response element binding protein and neuropeptide Y decline as early as middle age in the dentate gyrus and CA1 and CA3 subfields of the hippocampus. *Exp Neurol* 2005; 195(2): 353-371.
84. O'Callaghan RM, Griffin EW, Kelly AM. Long-term treadmill exposure protects against age-related neurodegenerative change in the rat hippocampus. *Hippocampus* 2009; 19(10): 1019-1029.
85. Siegmund A, Wotjak CT. A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear. *J Psychiatr Res* 2007; 41(10): 848-860.
86. Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 2003; 301(5634): 805-809.
87. Zegarra-Valdivia JA. Insulin-like growth factor type 1 and its relation with neuropsychiatric disorders. *Medwave* 2017; 17(07): e7031.
88. Santi A, Bot M, Aleman A, Penninx B, Aleman IT. Circulating insulin-like growth factor I modulates mood and is a biomarker of vulnerability to stress: from mouse to man. *Transl Psychiatry* 2018; 8(1): 142.
89. Fernández de Sevilla ME, Pignatelli J, Zegarra-Valdivia JA, Mendez P, Nuñez A, Torres Alemán I. Insulin-like growth factor I mitigates post-traumatic stress by inhibiting AMP-kinase in orexin neurons. *Mol Psychiatry* 2022; 27(4): 2182-2196.
90. Stein AM, da Silva TMV, de Melo Coelho FG, Rueda AV, Camarini R, Galduróz RFS. Acute exercise increases circulating IGF-1 in Alzheimer's disease patients, but not in older adults without dementia. *Behav Brain Res* 2021; 396: 112903.
91. Réus GZ, Abelaira HM, Agostinho FR, Ribeiro KF, Vitto MF, Luciano TF, et al. The administration of olanzapine and fluoxetine has synergistic effects on intracellular survival pathways in the rat brain. *J Psychiatr Res* 2012; 46(8): 1029-1035.
92. Lou C, Fang M, Ye S, Fang Z, Amin N, Chen Y. Fluoxetine protects against inflammation and promotes autophagy in mice model of post-traumatic stress disorder. *Behav Brain Res* 2022; 433: 114004.
93. Lee H, Kim J, Yim S, Kim M, Kim S, Kim Y, et al. Fluoxetine enhances cell proliferation and prevents apoptosis in dentate gyrus of maternally separated rats. *Mol Psychiatry* 2001; 6(6): 725-728.