

## تأثیر چهار هفته تمرین ورزشی داوطلبانه و اجباری بر رفتار شبه اضطراب ناشی از استرس دوران کودکی و عوامل التهابی مخچه در موش های صحرایی

ابوالفضل جعفرزاده باغان<sup>۱</sup>، مقصود پیری<sup>۲\*</sup>، محمد علی آذربایجانی<sup>۲</sup>

۱- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران  
۲.استاد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

یافته / دوره بیست و یکم / شماره ۳ / پاییز ۹۸ / مسلسل ۸۱

### چکیده

دریافت مقاله: ۹۸/۵/۱۳۰ پذیرش مقاله: ۹۸/۶/۱۰

مقدمه: هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر چهار هفته تمرین ورزشی اختیاری و اجباری در دوران نوجوانی بر رفتار شبه اضطراب و تأثیر آن بر میزان بیان ژن عوامل التهابی در مخچه است.

مواد و روش ها: به منظور انجام آزمایش، ۴۰ سررت نر به صورت تصادفی به ۵ گروه کنترل (C)، جدا شده از مادر (MS)، جدا شده از مادر و ورزش اختیاری (MS+RW)، جدا شده از مادر و ورزش اجباری (MS+TM) و جدا شده از مادر و داروی فلوکسیتین (MS+flx) تقسیم شدند. به استثنای گروه کنترل رت های سایر گروهها از روز ۲ پس از تولد تا روز ۱۴ پس از تولد به مدت ۱۸۰ دقیقه از مادرشان جدا شدند. سپس آزمودنی ها به صورت ۴ تایی تا روز ۲۸ در قفس نگهداری شدند. گروه های تمرین و دارو از روز ۲۸ با اختیاری (چرخ گردان) تمرین اجباری (تردمیل) و دارو (فلوکسیتین) تیمار شدند. در روز ۶۰ رفتارهای شبه اضطرابی به وسیله آزمون رفتاری EPM ارزیابی شد. میزان بیان ژن عوامل التهابی در بافت مخچه نیز اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج ما نشان داد ورزش اختیاری توانست بطور معنی داری و بهتر از اجباری رفتارهای شبه اضطراب ناشی از استرس جداسازی از مادر را خنثی نموده و بیان ژن عوامل التهابی در مخچه را کاهش دهد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان داد ورزش اختیاری می تواند به عنوان روش درمانی غیردارویی برای اختلالات ذهنی و روانی همچون اضطراب مفید باشد.

واژه های کلیدی: استرس اولیه دوران زندگی، رفتار شبه اضطراب، عوامل التهابی، ورزش اختیاری.

\*آدرس مکاتبه: تهران، جاده سوهانک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، دانشکده تربیت بدنی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

پست الکترونیک: m.peeri@iauctb.ac.ir

## مقدمه

در جوامع امروزی، اختلالات ناشی از استرس و اضطراب بخش بزرگی از بیماری های شایع را به خود اختصاص داده است (۱). در دو دهه گذشته، علاقه به تحول روانشناختی کودکان به سرعت افزایش یافته است که شاید یکی از دلایل آن آمار هشدار دهنده ای باشد که درباره اختلالهای روانشناختی کودکان ارایه می شود (۲). بر اساس گزارش انجمن ملی سلامت روان، در سال ۲۰۰۷ از میان ۲۰٪ کودکانی که دارای اختلالهای روانی، هیجانی و رفتاری تشخیص داده شده بودند، شدت مشکلات نیمی از آنها در حدی بود که رفتارهای اجتماعی آنان را کاملاً تحت تاثیر قرار داده بود (۳). یکی از موارد استرس زا که در دوره شیرخوارگی ایجاد می شود، استرس جدایی از مادر است (۴). در همین رابطه، گزارش برخی پژوهش ها حاکی از آنست که ناملايمات مربوط به اوایل زندگی در توسعه اختلالات روحی در انسان ها و جوندگان نقش بارزی ایفا میکند (۵). جدایی از مادر احتمالاً باعث افزایش پاسخ غده آدرنال و افزایش ترس و اضطراب در بزرگسالی می شود (۶). همچنین مطالعات انجام شده گواهی می دهد که مواجهه با استرس در دوران کودکی باعث رشد و تکامل غیرطبیعی و پاتولوژیک سیستم اعصاب مرکزی می شود، که همراه با تغییرات مشخص ساختاری، نوروشیمیائی، هورمونی و شناختی می باشد (۷).

از جمله موارد دخیل در پاتوفیزیولوژی اختلالات روانی همچون اضطراب، عوامل پیش التهابی می باشند که بدلیل فعال شدن گیرنده های سیستم ایمنی ذاتی مانند اینترلوکین ۶ تولید می شوند و قادرند تغییرات نورو شیمیایی و رفتاری در شخص ایجاد کنند (۸). همچنین پژوهش های زیادی نیز عنوان کرده اند که عوامل التهابی در شکل گیری اختلالات روانی همچون اضطراب نقش مهمی ایفا می کنند (۹،۸).

در همین راستا دانشمندان عقیده دارند که در زمان بروز استرس، برخی از مولکول های آسیب دیده باعث تولید عوامل التهابی می شوند (۹). همچنین مطالعات زیادی نیز عنوان کرده اند که عوامل التهابی در شکل گیری اختلالات روانی همچون رفتارهای شبه اضطرابی و انزوای اجتماعی نقش مهمی ایفا می کنند (۹).

از طرفی تلاشهای صورت گرفته در راستای درمان اختلالات روانی نشان می دهد، کاهش میزان عوامل التهابی در بهبود علائم اضطراب و افسردگی موثر می باشند (۱۰). اخیراً مشخص شده که فعالیت و تمرینات ورزشی دارای اثرات محافظت نرونی و اثرات ضد افسردگی و اضطراب می باشد (۱۱). فعالیت بدنی، به خصوص فعالیت های هوازی، که به طور مستمر و مداوم انجام می گیرد، به کاهش اختلالات عصبی و عاطفی کمک می نماید و از بروز بسیاری از اختلالات و بیماری های روانی پیشگیری و مقابله کرده و بسیاری از عوارض آنها را درمان و یا کاهش می دهد (۱۲). از سوی دیگر اثرات ضد اضطرابی ورزش در مطالعات بالینی و حیوانی از مسیر های متفاوتی مورد بررسی قرار گرفته است (۵،۹). تحقیقات نشان داده است، که ورزش احتمالاً با افزایش بیان و تولید عامل رشد نرونی مشتق شده از مغز (BDNF)، کاهش عوامل التهابی، افزایش میزان فعالیت سیستم سروتونرژیک و کاهش استرس اکسیداتیو اثرات ضد اضطراب دارد (۱۳). در این زمینه مطالعاتی عنوان کرده اند که ورزش و فعالیت بدنی در دوران بلوغ اثرات مفیدی در تعدیل رفتار های شبه افسردگی ناشی از استرس اوایل زندگی دارد (۵،۱۴).

در سالیان اخیر مطالعات بسیاری نقش عوامل پیش التهابی در بخش هایی از مغز مانند هیپوکامپوس و کورتکس را که نقش مهمی در بروز اختلالات روانی دارند مورد بررسی قرار داده اند (۵،۸)، اما مطالعات کمی به بررسی بیان عوامل التهابی در منخچه و نقش ورزش بر آنها

هنگام آزمون ها بین ۲۸۰ تا ۳۰۰ گرم بود. پروتکل تجربی بر اساس راهنمودهای انستیتوی ملی سلامت (NIH) که برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی است، انجام شد. (NIH publication # 80-23).

### پروتکل درمان با فلوکستین

فلوکستین هیدروکلراید از شرکت سیگما (سیگما-آلدریج، ایالات متحده) خریداری شد و در سالین نرمال حل شد، آماده سازی دارو درست قبل از آزمایش صورت گرفت. دارو با دوز ۵ mg/kg به روش تزریق داخل صفاقی از روز ۲۸ تا روز ۶۰ پس از تولد انجام شد. داروی فلوکستین به عنوان یک درمان موثر در بهبود عوارض افسردگی و اضطراب در موشها مورد استفاده قرار گرفت. قابل ذکر است که به طور معمول، حداقل ۲ الی ۳ هفته طول می کشد تا پس از استفاده از داروی فلوکستین بهبود قابل توجهی در خلق و خو ایجاد شود، و برای به حداکثر رسیدن فواید آن ممکن است تا ۱۲ هفته یا بیشتر زمان نیاز باشد (۵).

### پروتکل تمرینی چرخ گردان جوندگان

قبل از اجرای پروتکل تمرینی، در روز ۲۱ پس از تولد، گروه تجربی MS+RW به مدت ۱ هفته با چرخ گردان مخصوص جوندگان آشنا شدند. سپس به مدت ۳۲ روز تا روز ۶۰، ۲ موش در هر قفس با چرخ گردان جوندگان قرار گرفت. در طول تمرین هر موش فقط به چرخ گردان خود دسترسی داشت (برای جلوگیری از استرس انزوای اجتماعی بین دو موش یک ورق شیشه ای پلکسی گلس منفذدار قرار داده شد. هر چرخ گردان از پلکسی گلس ساخته شده بود (محیط ۱۰۵ سانتیمتر، طول ۱۰ سانتیمتر، نویدان طب، ایران) و به راحتی با مقاومت ۵g می چرخید. هر چرخ به یک کلید مغناطیسی که به یک شمارشگر که بیرون قفس حیوان قرار داشت و تعداد چرخش را نشان می داد، وصل شده بود. موش های صحرائی به راحتی به چرخ گردان جوندگان به صورت ۲۴

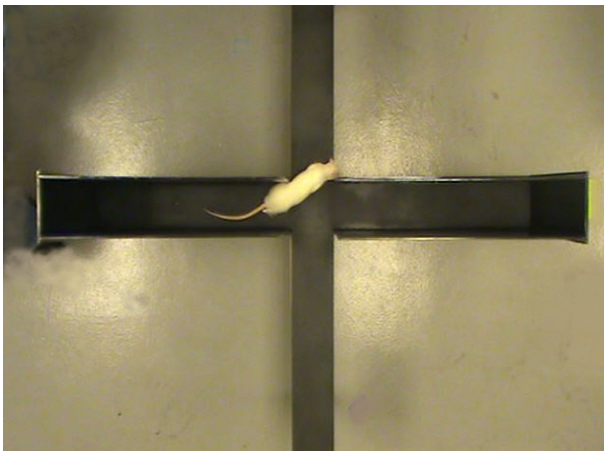
پرداخته اند. بر همین اساس و از آنجاییکه نتایج حاصل از چنین پژوهش هایی می تواند گام های مثبتی در جهت پیشگیری و کاهش اختلالات روانی شایع در جوامع انسانی باشد؛ بنابراین این مطالعه سعی دارد تا اثرات ورزش اختیاری و اجباری در دوران نوجوانی را بر روی علائم اضطراب و بیان عوامل پیش التهابی در موش های نر بالغ نژاد ویستار دچار استرس کودکی جدایی از مادر (MS) را مورد مطالعه قرار دهد.

### مواد و روش ها

در این تحقیق تجربی و آزمایشگاهی ۶ موش ماده باردار نژاد ویستار از انستیتو پاستور خریداری گردید و به طور جداگانه در قفس نگهداری شد (مرکز نگهداری از حیوانات گروه فیزیولوژی ورزش، شعبه تهران مرکز دانشگاه آزاد اسلامی). پس از وضع حمل، ۴۰ بچه موش نر به عنوان آزمودنی های تحقیق انتخاب شدند. از این تعداد ۸ موش بصورت تصادفی در گروه کنترل سالم (C) قرار گرفتند و تعداد ۳۲ بچه موش از روز ۲ تولد تا روز ۱۴ به مدت ۱۸۰ دقیقه از مادرشان جدا شدند. سپس در روز ۲۱ این موش ها برای تعیین چهار گروه MS (جدا شده از مادر)، جدا شده از مادر و ورزش داوطلبانه (MS+RW)، جدا شده از مادر و ورزش اجباری (MS+TM) و جدا شده از مادر و داروی فلوکستین (MS+FLX) تقسیم شدند؛ و به صورت ۴ تایی تا روز ۲۸ در قفس نگهداری شدند. در طول تحقیق، حیوانات به صورت گروه های ۴ سر موش در قفس های پلی اتیلنی ۱۵×۱۵×۳۰ سانتیمتری ساخت شرکت رازی راد، دمای ۲۲±۵°C و رطوبت ۵۰±۵٪ در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت تاریکی : ۱۲ ساعت روشنایی) نگه داری شدند و آزادانه به آب و غذای استاندارد (۱۰ گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن) ساخت شرکت بهپور به شکل پلت دسترسی داشتند. در انتهای تحقیق رت ها تحت آزمون های رفتاری و فیزیولوژیکی قرار گرفتند. وزن رت ها در

بیشتر وقت خود را در بازوهای باز گذارنده و تمایل بیشتری به این قسمت‌ها دارد (۱۷).

این ابزار از جنس چوب با رنگ تیره است و از ۴ بازو به شکل علامت مثبت (+) تشکیل شده است. ابعاد بازوها ۵۰ سانتیمتر × ۱۰ سانتیمتر بوده و دو طرف و انتهای ۲ بازوی بسته دارای دیواری به ارتفاع ۴۰ سانتیمتر است. این ۴ بازو به یک مربع مرکزی به ابعاد ۱۰ سانتیمتر × ۱۰ سانتیمتر منتهی می‌شوند. ماز توسط پایه‌هایی در ارتفاع ۶۰ سانتیمتری از سطح زمین قرار می‌گیرد. هنگام آزمایش رت‌ها درون مربع مرکزی به صورتی که سرشان به سمت بازوی باز باشد، قرار گرفتند و به مدت ۵ دقیقه آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت می‌کردند و این مدت زمان توسط دوربین به طور کامل فیلمبرداری شد (۱۷).



شکل ۱. تصویری از حضور موش در دستگاه EPM همانطور که ذکر شد در ابتدای تست، موش در مرکز دستگاه قرار می‌گیرد. عاملی که در این تست اهمیت دارد دو پارامتر مدت زمان سپری شده در بازوهای باز و تعداد دفعات ورود به داخل بازوهای باز است. البته منظور از ورود هنگامی است که هر ۴ پای حیوان در راهرو مورد نظر قرار بگیرد و مدت زمان سپری شده هم بر این اساس محاسبه می‌شود (۱۷).

ساعته و به مدت ۳۲ روز تا روز ۶۰ دسترسی داشتند و مقدار مسافت دویدن آنها روزانه و به صورت متر، ثبت می‌گردید (۱۵).

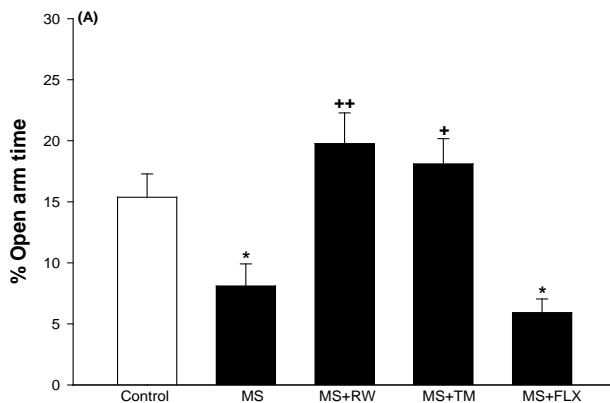
### پروتکل تمرینی تردمیل جوندگان

در روز ۲۱، گروه تمرینی به مدت ۱ هفته با دستگاه تردمیل آشنا گردید. برنامه آشنایی شامل ۵ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۵ تا ۸ متر در دقیقه و شیب صفر درجه و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه بود. برنامه اصلی تمرینی برای گروه تمرینی شامل ۴ هفته دویدن روی نوار گردان بدون شیب ویژه جوندگان (ساخت پژوهشکده تربیت بدنی) بود. حیوانات به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته از ساعت ۹:۰۰ صبح الی ۱۵:۰۰ تمرین تردمیل را انجام دادند. اگر حیوانات از دویدن روی تردمیل امتناع ورزیدند، به آنها یک شوک الکتریکی خفیف (۰/۲۵ میلی آمپر) اعمال می‌شد تا آنها را مجبور به ادامه کار کنند. پروتکل تمرین تردمیل شامل ۳۰ دقیقه (۱۰ متر در دقیقه) برای ۲ هفته اول، ۴۵ دقیقه (۱۵ متر در دقیقه) برای هفته سوم و ۶۰ دقیقه (۱۵ متر در دقیقه) برای هفته چهارم بود. در هر جلسه تمرینی، رت‌ها بعد از هر ۱۵ دقیقه تمرین، ۵ دقیقه استراحت داشتند. تمام حیواناتی که از برنامه تمرین (TM) مطابق پروتکل آزمایش در هفته‌های قبل از آزمون امتناع ورزیدند، از مطالعه ما خارج شدند. برای سرد کردن در انتهای هر جلسه تمرینی نیز سرعت نوار گردان به طور معکوس تا رسیدن به سرعت اولیه کاهش یافت (۱۶).

### آزمون رفتاری ماز بعلاوه‌ای شکل Elevated Plus Maze (EPM)

جهت سنجش اضطراب در رت‌ها از مدل رفتاری ماز بعلاوه‌ای شکل استفاده شد. این ابزار بر اساس دو گزینه، حس جستجوگریانه جوندگان و احتیاز از محیط‌های باز و روشن در آنها، طراحی شده است. در این روش حیوان

معناداری استفاده شد. نتایج بررسی نشان می دهد که بین گروه کنترل مثبت (MS) با گروه تمرین اجباری (MS+TM) و گروه تمرین اختیاری (MS+RW) تفاوت معنی داری مشاهده شد، ولی در مقایسه با گروه فلوکستین (MS+FLX) تفاوت معنی داری مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ).



\*: در مقایسه با گروه کنترل

+: در مقایسه با گروه MS

شکل A۲. مدت زمان توقف آزمودنی ها در بازوی باز در گروههای تحقیق که نشان دهنده وضعیت تفاوت میانگین بین گروههای تحقیق است ( $p < 0.05$ ). (MS) جداسازی از مادر، کنترل، FLX فلوکستین، TM تردمیل، RW رانینگ ویل یا دوچرخه گردان)

### جمع آوری نمونه های مخچه برای بررسی بیان ژن

در روز ۶۰، ۴ حیوان از هر گروه برای جمع آوری نمونه های مخچه (IL-6، TLR4، myod88، IL-1 $\beta$ ) انتخاب و نمونه های لازم جمع آوری شد. برای این منظور در ابتدای کار میزان غلظت بهینه cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هر کدام به طور جداگانه مشخص می شود. به گونه ای که کمترین میزان دایمر مشاهده شود.

Real time - PCR با استفاده از Premix (2x)

Ex Taq II و با استفاده از غلظت 100 ng از cDNA

انجام گرفت.

تمامی مواد استفاده شده در استخراج RNA و Real

time - PCR از شرکت کیازن (Qiagen) (ساخت کشور

آلمان) و سنتز cDNA از شرکت رش (Roche) بود (۵).

### آنالیز آماری

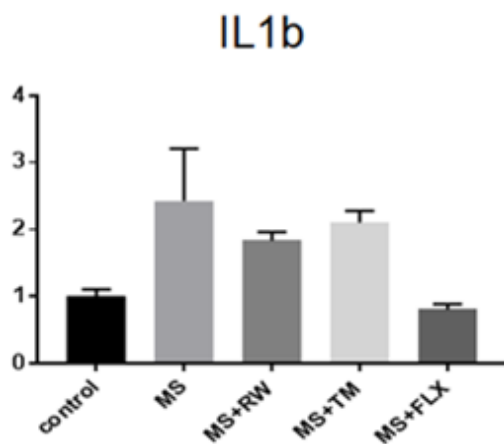
پس از جمع آوری داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برای بررسی نرمال بودن توزیع داده ها و آزمون one-way ANOVA با پست تست Tukey برای تحلیل یافته ها استفاده شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS مدل ۱۷ و نرم افزار Graph-pad prism انجام شد. حد معناداری به صورت ( $p < 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

### یافته ها

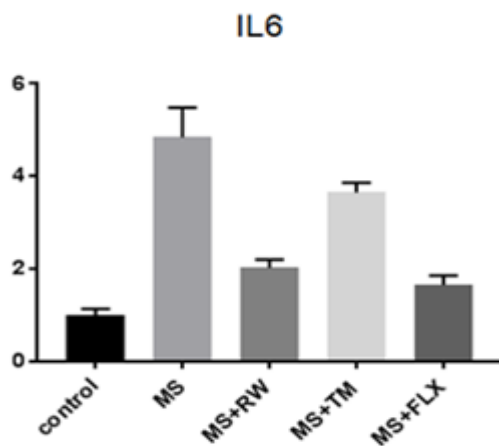
اثر ورزش اجباری و اختیاری بر روی رفتار شبه

اضطراب ناشی از استرس جدایی از مادر

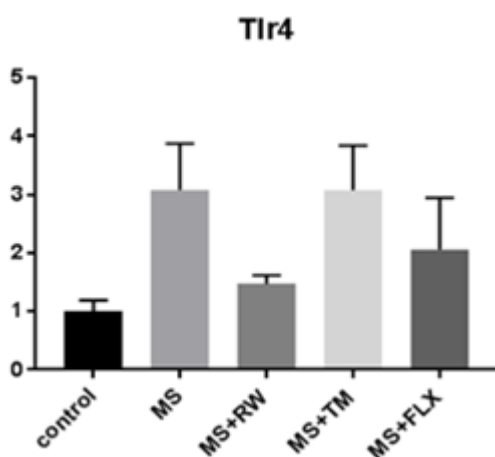
با توجه به نتایج ارائه شده در شکل ۲ (A و B) مشخص می گردد که بین میانگین بدست آمده گروهها تفاوت معنی داری وجود دارد. بنابراین با توجه به برابر نبودن واریانس نمونه ها (Homogeneity of Variance) ( $p < 0.05$ ) از آزمون تعقیبی Tukey برای یافتن جایگاه



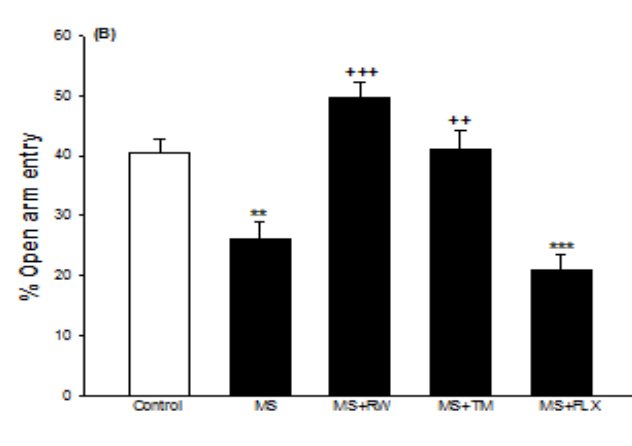
شکل ۳. اثر شرایط پرورش و درمان متفاوت بر بیان ژن IL1b



شکل ۴. اثر شرایط پرورش و درمان متفاوت بر بیان ژن IL-6



شکل ۵. اثر شرایط پرورش و درمان متفاوت بر بیان ژن TLR4



\*: در مقایسه با گروه کنترل

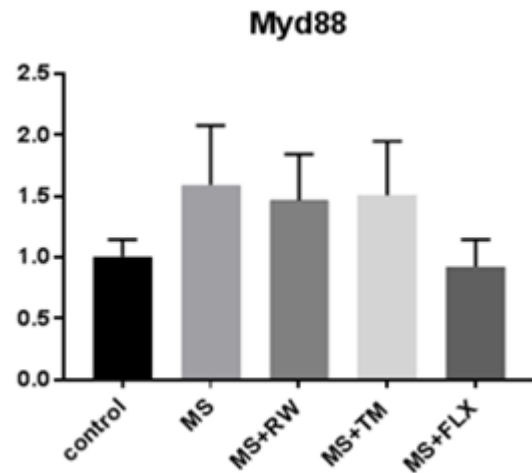
+: در مقایسه با گروه MS

شکل B۲. تعداد دفعات عبور آزمودنی ها از بازوی باز (B) در گروههای تحقیق که نشان دهنده وضعیت تفاوت میانگین بین گروههای تحقیق است ( $p < 0.05$ ). MS جداسازی از مادر، کنترل، FLX فلوکستین، TM تردمیل، RW رانینگ ویل یا دوچرخه گردان).

اثر تمرین اختیاری و اجباری بر کاهش بیان ژن عوامل التهابی

در این پژوهش اثر تمرین ورزش اجباری (TM) تردمیل و اختیاری یا چرخ دو جوندگان (RW) بر روی اثرات استرس دوران کودکی بر بیان ژنهای عوامل التهابی در مخچه رت های بزرگسال مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از تست آماری ONE-WAY ANOVA تفاوت معنی دار بین گروه های آزمایشی مشاهده شد. با توجه به نتایج ارایه شده در اشکال ۴، ۳ و ۵ مشخص شد که استرس جدایی از مادر بصورت معنی داری موجب افزایش بیان ژن IL1b ( $F(4,5)=7.307, p < 0.05$ ) در مخچه رت های بالغ شد (شکل ۳).

EPM نمایانگر وجود رفتارهای اضطرابی در حیوان است. در حقیقت حیوان مضطرب از حضور در فضایی باز و بدون دیوار هراس و اضطراب دارد و ترجیح می دهد که در بازوهای بسته باقی بماند. از طرفی، کاهش دفعات ورود حیوان به بازوهای باز در گروه استرس همراه با کاهش زمان حضور آنها نیز بود که خود شاخصی برای وجود رفتارهای اضطرابی در موشها می باشد. با این اوصاف، ورزش اختیاری قادر به کاهش این رفتارهای اضطرابی در حیوان شد و اثر حفاظتی و درمانی از خود نشان داد. عدم حضور در فضای مرکزی دستگاه EPM بر این دلالت دارد که حیوان از حضور در فضای باز دچار اضطراب و هراس است. که البته ورزش (نوع اختیاری بهتر) توانست اختلال در این رفتار را نیز بهبود بخشد. در مطالعات زیادی گزارش شده است که سیستم سروتونین در ارتباط با اختلالات خلق و خو و اضطراب می باشد (۵،۹). در این میان مطالعات بسیاری بر این باورند که رسپتورهای 5HT-2c و 5HT-3c در اختلالات اضطرابی نقش عمده ای ایفا می کنند (۱۸،۱۷). در پژوهشی مشابه ذولفقاری و همکاران (۲۰۱۸) در تحقیقی که بر روی موش های صحرایی نر انجام دادند ثابت کردند که استرس جدایی از مادر باعث بیان ژن های التهابی در هیپوکامپوس شده و باعث بروز اختلالات رفتاری و رفتارهای شبه افسردگی در موش ها شده است (۱۹). هیپوکامپوس و کورتکس هر دو از ساختارهای مهم مغز می باشند که در رابطه با بروز رفتارهای افسردگی و اضطراب هستند (۲۰). افزایش بیان این رسپتورها در مطالعات قبلی نشانگر بروز افسردگی و اضطراب در انسانها و حیوانات بود (۲۱). از دیگر دلایل اشاره شده می توان به این موارد نیز اشاره داشت که کاهش اضطراب به دنبال ورزش می تواند از تغییرات در هیپوکامپ ناشی شود و دویدن تعداد نورون های تحرکی جدید را در ژيروس دنتیت افزایش می دهد (۲۱). همچنین دویدن تولید



شکل ۶. اثر شرایط پرورش و درمان متفاوت بر بیان ژن Myd88

نتایج مشابه در مورد ژن IL-6 (شکل ۴) ( $p < 0.05$ ) ،  $F(4,5) = 45/42$  و TLR4 (شکل ۵) ( $p < 0.05$ ) ،  $F(4,5) = 4/297$  بدست آمد. ولی هیچگونه تغییر معنادار از افزایش بیان ژن Myd88 (شکل ۶) ( $p < 0.05$ ) ،  $F(4,5) = 4/297$  را نشان نداد.

همچنین بررسی آماری تکمیلی Tukey مشخص کرد که ورزش اختیاری (RW+MS) و داروی فلوکسیتین در مقایسه با گروه MS بصورت معنی داری موجب کاهش بیان ژنهای IL-6 ( $p < 0.001$ ) ، IL-1 $\beta$  و TLR4 ( $p < 0.01$ ) در مخچه گردید. این نتایج ثابت می کند که ورزش اختیاری می تواند در کاهش بیان ژن های عوامل التهابی تاثیر معناداری داشته باشد.

### بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد استرس جدایی از مادر در مراحل اولیه زندگی باعث بروز رفتارهای شبه اضطرابی و افزایش بیان ژن های التهابی های IL-6 ، IL-1 $\beta$  ، Myd88 و TLR4 در مخچه موش های صحرایی می شود.

نتایج تست رفتاری EPM در این مطالعه نشان داد که حیواناتی که تجربه استرس جدایی از مادر در مراحل اولیه زندگی را داشتند، دارای اضطراب هستند. کاهش دفعات ورود این گروه از آزمودنی ها به بازوهای باز در

استراحت بعد از ورزش نیز تاثیر گذار می باشد و به طور خلاصه تاثیر ورزش بر اضطراب چند عاملی و متأثر از شدت ورزش، زمان استراحت پس از ورزش و میزان اضطراب قبل از ورزش است. لذا عدم همخوانی برخی نتایج پژوهش در این زمینه به علت تفاوت در مدت زمان، شدت ورزش و زمان انجام آزمایش اضطراب و افسردگی پس از تمرین است.

از سوی دیگر نتایج تحقیق ما نشان داد ورزش اختیاری و اجباری و داروی فلوکسیتین توانست با افزایش بیان ژن عوامل التهابی مقابله نماید و میزان بیان این ژنها را کاهش داد. اعتقاد دانشمندان بر این است که MS به عنوان یکی از عوامل افزایش بیان ژن های التهابی در مغز می باشد (۵). به طور مثال نیتریک اکساید در التهاب حاد و مزمن نقش دارد (۲۱). در این راستا مطالعات اخیر نشان داده اند که NO با فعال کردن COX-2 ساخت پروستاگلاندین های التهابی را افزایش می دهد (۲۲). بنابراین مهار ساخت NO می تواند اثرات مفیدی بر بیماری های التهابی داشته باشد (۲۲). همچنین محققان دپارتمان روانپزشکی و مطالعات خودکشی، گروه مک گیل در کبک کانادا دریافتند که بعضی از سلول های کورتکس مغز در بیماران متأثر از افسردگی بزرگتر و ملتهب می شوند که این تغییرات می تواند به عنوان تائید نظریه التهاب نورونی در افسردگی شناخته شود (۲۳).

در این راستا نتایج پژوهش ذولفقاری و همکاران نشان داد که MS در دوران کودکی موجب بروز التهاب در هیپوکامپوس در دوران بزرگسالی می شود و این التهاب به موجب افزایش بیان ژن های IL-6، IL-1 $\beta$  و iNOS می باشد (۱۹).

دیگر نتایج ما نشان داد، فعالیت اختیاری رانینگ ویل (RW) قادر به کاهش بیان ژن IL-6، IL-1 $\beta$  و Tlr4 در مخچه بود. همسو با نتایج ما مطالعات قبلی گزارش کرده اند که فعالیت ورزشی اختیاری بدلیل اختیاری بودن نوع فعالیت بر خلاف فعالیت اجباری از ایجاد استرس جلوگیری

شاخه های دندریتی بیشتر را روی نورون های تحریکی در سرتاسر مدار هیپوکامپ تحریک می کند (۲۲). هیپوکامپ شکمی در جوانان در پردازش احساسات، همچون تنظیم استرس و اضطراب دخالت دارند (۲۲). گزارش شده است که ورزش در موش های صحرایی باعث افزایش نورونز در ژيروس دنتیت موش شده و باعث فعالیت فاکتورهای رشد همانند IGF1 و فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) می گردد که در تنظیم فرایندهای اضطرابی نقش دارد (۲۰). از طرفی یافته های اخیر نشان داد موش هایی که به مدت ۵ هفته با ترمیل ورزش داده شدند، سطح هورمون های آدرنال (ACTH و کورتیکو استرون) در آنها کاهش یافته و به عبارتی ورزش باعث افزایش کنترل محور هیپوفیز-هیپوتالاموس در پاسخ به استرس های بعدی می گردد (۲۴). عنوان شده است که تغییرات همراه با ورزش در پاسخ محور هیپوفیز-هیپوتالاموس به استرس، می تواند در نتیجه تغییر در رهایی هورمون کورتیکواسترون، پایان دهی پاسخ این هورمون و یا هردو مورد باشد (۲۵). تغییر در رهایی هورمون کورتیکو استرون از غده فوق کلیوی می تواند در نتیجه تغییر در رهایش ACTH از هیپوفیز باشد (۲۵).

یکی دیگر از مکانیسم های بیان شده تاثیر ورزش بر افزایش گابای (یکی از اصلی ترین میانجی های عصبی بازدارنده) موجود در برخی از نقاط مغز می باشد (۲۶). نتیجه کلی بررسی و مطالعه منابع در دسترس نشان داده که استرس دوران کودکی می تواند از طریق مسیرهای مختلف موجبات بروز اضطراب و افسردگی را در بزرگسالی فراهم کند (۲۳ تا ۲۵). مطالعه حال حاضر برای اولین بار نشان داد که ورزش اختیاری در دوران نوجوانی قادر به کاهش بیان این ژنها در مغز بوده و نقش حفاظتی بر علیه استرس دارد. در توجیه تفاوت های مشاهده شده می توان بیان کرد که پاسخ اضطراب به ورزش، به میزان اضطراب افراد قبل از ورزش نیز وابسته است. همچنین مدت زمان



آنها مقابله کند (۲۷،۶). پیش از این برخی تحقیقات تفاوت بسیاری بین اثرات تمرینات اجباری و اختیاری بر روی خصوصیات رفتاری جوندگان را تایید کرده اند (۳۰). با اینکه یافته‌هایی نیز اثرات مثبت ورزش اجباری در برابر شرایط استرس‌زا را نشان داده‌اند ولی نباید از یاد ببریم که دویدن اجباری بر روی تردمیل با استرس ناشی از شوک الکتریکی همراه است (۳۲،۳۱).

در پایان با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان گفت، ورزش داوطلبانه می‌تواند عوارض ناشی از استرس جدایی از مادر مانند رفتارهای شبه اضطرابی را از طریق کاهش بیان ژنی عوامل التهابی، کاهش دهد. بنابراین می‌توان از ورزش های اختیاری همچون بازی های مفرح و دارای تحرک را بعنوان یک روش غیردارویی مفید در درمان و پیشگیری اختلالات روانی ناشی از روش های تنش‌زا و پر استرس زندگی در جوامع امروزی، جایگزین داروهای ضد افسردگی و اضطرابی مانند فلوکستین، که در اغلب موارد دارای عوارض جانبی متعدد هستند، مورد استفاده قرار داد.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه دوره دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی می‌باشد. در پایان از تمامی دوستان و همکاران که در طی مراحل این پژوهش یاری کننده ما بودند، صمیمانه سپاس‌گزاری می‌نمایم.

می‌کند و در حقیقت یک ورزش بدون استرس بوده؛ که به اختیار خود حیوان انجام شده و مسیرهای لذت را فعال می‌کند (۲۰،۱۹). بسیاری از مطالعات ورزش اختیاری را در زمره عوامل تسهیلات محیطی یا Environmental Enrichment (EE) قرار داده‌اند (۲۴).

از آنجایی که در این پژوهش ورزش در سنین نوجوانی به حیوانات داده شده است این موضوع مطرح است که ورزش اختیاری به عنوان عاملی غیر دارویی محسوب شده که اتصالات نورونی را تقویت و اثر استرس را تضعیف کرده است.

اثرات ضد اضطرابی ورزش در مطالعات بالینی و حیوانی از مسیرهای متفاوتی مورد بررسی قرار گرفته است (۲۵). ورزش با افزایش بیان و تولید فاکتورهای رشد نورونی مانند BDNF کاهش فاکتورهای التهابی، افزایش میزان فعالیت سیستم سروتونرژیک و کاهش استرس اکسیداتیو همراه است (۲۵،۲۶).

با ملاحظه این نکته که برخی از تحقیقات گذشته عنوان کرده‌اند که تمرینات اجباری با توجه به ماهیت اجباری بودن و احتمالاً وجود عامل ناخوشایند شوک الکتریکی در حین تمرین در درمان رفتارهای شبه افسردگی مفید واقع نشده‌اند (۵). نتایج ما و برخی تحقیقات دیگر پیشنهاد می‌دهند که تمرینات اختیاری و داوطلبانه با فواید بیشتری نسبت به تمرینات اجباری بر روی تردمیل می‌توانند بعنوان یک غنی‌ساز محیطی و درمان غیر دارویی در رت‌های نوجوان مورد توجه قرار بگیرند (۲۸،۲۷). در این زمینه برخی از مطالعات عنوان کرده‌اند که رفتار بازی در دوره نوجوانی رت‌ها بروز میکند و در شکل‌گیری مدارهای عصبی مرتبط با انگیزش و رفتار اجتماعی نقش مهمی بازی میکند (۲۹).

بر همین اساس احتمالاً ورزش داوطلبانه در این دوره می‌تواند با تاثیر بر خصوصیات رفتاری و فرایند شکل‌گیری اعصاب رت‌ها در برابر رویدادهای استرس‌زای اوایل زندگی

## References

1. Costello EJ, Egger HL, Angold A. The developmental epidemiology of anxiety disorders: phenomenology, prevalence, and comorbidity. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics*. 2005 Oct 1;14(4):631-648.
2. Slavich GM, Irwin MR. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. *Psychological bulletin*. 2014; 140(3):774-815.
3. Rao U, Chen LA, Bidesi AS, Shad MU, Thomas MA, Hammen CL. Hippocampal changes associated with early-life adversity and vulnerability to depression. *Biological psychiatry*. 2010 Feb 15;67(4):357-364.
4. Evans GW, Kim P. Childhood poverty, chronic stress, self-regulation, and coping. *Child development perspectives*. 2013 Mar;7(1):43-48.
5. Marco EM, Llorente R, López-Gallardo M, Mela V, Llorente-Berzal Á, Prada C, Viveros MP. The maternal deprivation animal model revisited. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2015 Apr 1; 51:151-163.
6. Sadeghi M, Peeri M, Hosseini MJ. Adolescent voluntary exercise attenuated hippocampal innate immunity responses and depressive-like behaviors following maternal separation stress in male rats. *Physiology & behavior*. 2016 Sep 1; 163:177-183.
7. Faure J, Uys JD, Marais L, Stein DJ, Daniels, WM. (2006) Early maternal separation followed by later stressors leads to dysregulation of the HPA-axis and increases in hippocampal NGF and NT-3 levels in a rat model. *Metab Brain Dis* 21:181–188.
8. Remus JL, Dantzer R. Inflammation models of depression in rodents: relevance to psychotropic drug discovery. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2016 Sep 1;19(9).
9. Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nature immunology*. 2015 Apr;16(4):343.
10. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®). American Psychiatric Pub; 2013 May 22.
11. Schmidt HL, Vieira A, Altermann C, Martins A, Sosa P, Santos FW, Mello-Carpes PB, Izquierdo I, Carpes FP. Memory deficits and oxidative stress in cerebral ischemia–reperfusion: Neuroprotective role of physical exercise and green tea supplementation. *Neurobiology of learning and memory*. 2014 Oct 1; 114:242-250.
12. Gaudlitz K, Plag J, Dimeo F, Ströhle A. Aerobic exercise training facilitates the effectiveness of cognitive behavioral therapy in panic disorder. *Depression and anxiety*. 2015 Mar;32(3):221-228.
13. Navarro A, Gomez C, López-Cepero JM, Boveris A. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transfer. *American journal of physiology-regulatory, integrative and comparative physiology*. 2004 Mar;286(3):R505-511.
14. Daniels WM, Marais L, Stein DJ, Russell VA. Exercise normalizes altered expression

- of proteins in the ventral hippocampus of rats subjected to maternal separation. *Experimental physiology*. 2012 Feb;97(2):239-247.
15. Miladi-Gorji H, Rashidy-Pour A, Fathollahi Y. Anxiety profile in morphine-dependent and withdrawn rats: effect of voluntary exercise. *Physiology & behavior*. 2012 Jan 18;105(2):195-202.
  16. Saadati H, Esmaeili-Mahani S, Esmaeilpour K, Nazeri M, Mazhari S, Sheibani V. Exercise improves learning and memory impairments in sleep deprived female rats. *Physiology & behavior*. 2015 Jan 1; 138:285-291.
  17. Beilharz JE, Kaakoush NO, Maniam J, Morris MJ. Cafeteria diet and probiotic therapy: cross talk among memory, neuroplasticity, serotonin receptors and gut microbiota in the rat. *Molecular psychiatry*. 2018 Feb;23(2):351.
  18. Songtchalert T, Roomruangwong C, Carvalho AF, Bourin M, Maes M. Anxiety disorders: sex differences in serotonin and tryptophan metabolism. *Current topics in medicinal chemistry*. 2018 Jul 1;18(19):1704-1715.
  19. Zolfaghari F, Peeri M, Hosseini M. The effect of adolescent treadmill mandatory exercise on symptoms of depression and brain inflammatory responses following maternal separation stress in mature male rats. *EBNESINA*. 2018; 19 (4) :4-12
  20. Somani SM, Husain K, Diaz-Phillips L, Lanzotti DJ, Kareti KR, Trammell GL. Interaction of exercise and ethanol on antioxidant enzymes in brain regions of the rat. *Alcohol*. 1996 Nov 1;13(6):603-610.
  21. Salmon P. Effects of physical exercise on anxiety, depression, and sensitivity to stress: a unifying theory. *Clinical psychology review*. 2001 Feb 1;21(1):33-61.
  22. Patel S, Hill MN, Cheer JF, Wotjak CT, Holmes A. The endocannabinoid system as a target for novel anxiolytic drugs. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2017 May 1; 76:56-66.
  23. Nemoda Z, Massart R, Suderman M, Hallett M, Li T, Coote M, Cody N, Sun ZS, Soares CN, Turecki G, Steiner M. Maternal depression is associated with DNA methylation changes in cord blood T lymphocytes and adult hippocampi. *Translational psychiatry*. 2015 Apr;5(4): e545.
  24. Belz EE, Kennell JS, Czambel RK, Rubin RT, Rhodes ME. Environmental enrichment lowers stress-responsive hormones in singly housed male and female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2003 Dec 1;76(3-4):481-486.
  25. Bhagwagar Z, Cowen PJ, Goodwin GM, Harmer CJ. Normalization of enhanced fear recognition by acute SSRI treatment in subjects with a previous history of depression. *American Journal of Psychiatry*. 2004 Jan 1;161(1):166-168.
  26. Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, Zinkernagel R, Bluethmann H, Köhler G. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature*. 1994 Mar;368(6469):339.
  27. Bekinschtein P, Oomen CA, Saksida LM, Bussey TJ. Effects of environmental enrichment and voluntary exercise on

- neurogenesis, learning and memory, and pattern separation: BDNF as a critical variable? In Seminars in cell & developmental biology 2011 Jul 1 (Vol. 22, No. 5, pp. 536-542). Academic Press.
28. Olson AK, Eadie BD, Ernst C, Christie BR. Environmental enrichment and voluntary exercise massively increase neurogenesis in the adult hippocampus via dissociable pathways. *Hippocampus*. 2006;16(3):250-260.
29. Ernst M, Romeo RD, Andersen SL. Neurobiology of the development of motivated behaviors in adolescence: a window into a neural systems model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2009 Sep 1;93(3):199-211.
30. Patki G, Solanki N, Atrooz F, Ansari A, Allam F, Jannise B, Maturi J, Salim S. Novel mechanistic insights into treadmill exercise based rescue of social defeat-induced anxiety-like behavior and memory impairment in rats. *Physiology & behavior*. 2014 May 10; 130:135-144.
31. Patki G, Li L, Allam F, Solanki N, Dao AT, Alkadhi K, Salim S. Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Physiology & behavior*. 2014 May 10; 130:47-53.
32. Dishman RK, Renner KJ, White-Welkley JE, Burke KA, Bunnell BN. Treadmill exercise training augments brain norepinephrine response to familiar and novel stress. *Brain research bulletin*. 2000 Jul 15;52(5):337-342.

## The effect of four weeks of voluntary and compulsory training on anxiety-like behavior induced by childhood stress and cerebellar inflammatory factors in rats

**Jafarzadeh Baghan A<sup>1</sup>, Peeri M<sup>\*2</sup>, Azarbayjani M<sup>2</sup>**

1. Physical Education Faculty, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran.

2. Professor, Physical Education Faculty, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran.  
m.peeri@iauctb.ac.ir

Received: 21 Aug 2019

Accepted: 1 Sep 2019

### Abstract

**Background:** The purpose of the present study was to investigate the effect of four weeks of voluntary and compulsory exercise training in adolescence on pseudo-anxiety behaviors and its effect on the expression of fetal inflammatory factors in the cerebellum.

**Materials and Methods:** To conduct the experiment, 40 male rats were randomly divided into 5 groups of the control (C), separated from the mother (MS), separated from the mother and voluntary exercise (MS + RW), separated from the mother and compulsory exercise (MS + TM), and isolated from the mother and Fluoxetine (MS + FLX). Except for the control group, the rats of other groups were separated from their mothers from the second to the 14th day after birth for 180 minutes. Subsequently, the subjects were kept in cages of four rats until the 28th day. Drug and treatment groups were treated with the voluntary procedure (running wheel), compulsory practice (treadmill) and drug (Fluoxetine) from the 28th day. On the 60th day, pseudo-anxiety behaviors were evaluated by EPM behavior test. The level of the gene expression of inflammatory factors in the cerebellum was also measured.

**Results:** Our results showed that voluntary exercise could significantly and more effectively than compulsory training eliminate anxiety-like behaviors induced by the stress of separation from the mother from the mother, and reduce the expression of the inflammatory factors' gene in the cerebellum.

**Conclusion:** The results of this study indicated that voluntary exercise can be useful as a non-prescriptive therapeutic approach against mental and psychological disorders such as anxiety.

**Keywords:** Primary lifestyle stress, anxiety-like behavior, inflammatory factors, voluntary exercise.

\***Citation:** Jafarzadeh Baghan A, Peeri M, Azarbayjani M. The effect of four weeks of voluntary and compulsory training on anxiety-like behavior induced by childhood stress and cerebellar inflammatory factors in rats. *Yafte*. 2019; 21(3):23-35.